

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra fyziologie



**Echokardiografické hodnocení systolické funkce levé srdeční  
komory u potkanů adaptovaných na hypoxii a  
zvýšenou fyzickou zátěž**

**Echocardiographic assessment of left ventricular systolic  
function in rats adapted to hypoxia and exercise training**

**Jaroslav Hrdlička**

Praha 2013

Vedoucí diplomové práce: Ing. František Papoušek, CSc.

(Konzultant: RNDr. Jiří Novotný, DSc.)

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 12. 8. 2013

Podpis

## **Poděkování**

Rád bych poděkoval svému školiteli Ing. Františku Papouškovi, CSc. za odborné vedení této diplomové práce a připomínky a cenné rady při jejím zpracovávání. Dále bych chtěl poděkovat prof. RNDr. Františku Kolářovi, CSc. za konzultace k tématu této práce a celému kolektivu Oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu AV ČR, s kterým jsem měl tu čest spolupracovat v průběhu řešení této diplomové práce. Poslední a největší dík patří mým rodičům za vytrvalou podporu během celého mého studia.

## Abstrakt

Adaptace na hypoxii nebo zvýšenou fyzickou zátěž má kardioprotektivní účinky proti ischemickému poškození, může však být spojena i s negativním dopadem na funkci srdce. Případné negativní změny přitom závisí na stupni hypoxie či intenzitě fyzické zátěže a u konkrétních používaných protokolů je nezbytné je ověřit. Ideálním metodickým přístupem je přitom echokardiografie, která umožňuje neinvazivní, opakovaná a dlouhodobá měření u stejných jedinců a sledování vývoje změn v průběhu adaptace.

Cílem této práce bylo pomocí echokardiografických vyšetření zjistit vliv vybraného protokolu adaptace na intermitentní hypobarickou hypoxii (odpovídající nadmořské výšce od 4 000 m do 8 000 m v celkové délce 15 týdnů) a protokolu adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž (běh rychlostí 30 m.min<sup>-1</sup>, 60 min denně po dobu 4 týdnů) na změny geometrie a systolické funkce levé srdeční komory potkanů. Hodnoceny byly základní echokardiografické parametry geometrie komory a parametry srdeční funkce (frakční zkrácení, ejekční frakce, tepový objem, srdeční výdej a další ukazatele).

Při adaptaci potkanů na intermitentní hypobarickou hypoxii nedošlo ve srovnání s kontrolní skupinou ke zhoršení echokardiografických ukazatelů systolické funkce ani k rozvoji hypertrofie levé komory; známky hypertrofie byly zaznamenány pouze při nejvyšším stupni hypoxie, odpovídající 8 000 m n.m. Adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž nevedla ke změnám systolické funkce ani srdeční geometrie. Konkrétní adaptační protokoly, používané ke studiu kardioprotektivních mechanismů, tedy nejsou spojeny s nežádoucími negativními vlivy a změnami echokardiografických ukazatelů funkce a geometrii levé komory srdce laboratorních potkanů.

**Klíčová slova:** echokardiografie, experimentální kardiologie, fyzická zátěž, chronická hypoxie, kardioprotekce, levá srdeční komora, systolická funkce, potkan

## Abstract

Adaptation to hypoxia or exercise training has cardioprotective effects against acute ischemic injury, but can potentially negatively influence heart function. Possible negative changes depend on the degree of hypoxia and exercise training intensity. It is therefore necessary to evaluate the effects of the specific adaptation protocols used. The ideal technique is echocardiography, which enables non-invasive, repeated and long-term measurements of the same individual allowing to study the development of changes in the course of adaptation.

The aim of this study was to determine the effects of selected protocols of adaptation to intermittent hypobaric hypoxia (corresponding to the altitude of 4,000 to 8,000 meters above sea level, for 15 weeks in total) and exercise training (running speed 30 m.min<sup>-1</sup> for 60 min a day, 4 weeks in total) on the left ventricle geometry and systolic function in rats. We assessed basic echocardiographic parameters of the ventricle geometry and function such as fractional shortening, ejection fraction, stroke volume, cardiac output etc.

The adaptation of rats to intermittent hypobaric hypoxia lead neither to the impairment of systolic function nor to the development of left ventricle hypertrophy compared to controls; signs of moderate hypertrophy were observed only at the highest degree of hypoxia corresponding to 8,000 m above sea level. Adaptation to exercise training had no effects. In conclusion, the specific adaptation protocols, used to study cardioprotective mechanisms, are not associated with unfavorable changes in echocardiographic parameters of the left ventricle systolic function and geometry in rats.

**Keywords:** echocardiography, experimental cardiology, exercise training, chronic hypoxia, cardioprotection, left ventricle, systolic function, rat

## Obsah

	Seznam použitých zkratk	7
1.	<b><u>Úvod</u></b>	10
2.	<b><u>Literární přehled</u></b>	11
2.1	<b>Funkce srdce</b>	11
2.2	<b>Kardioprotekce</b>	12
2.2.1	<b>Kardioprotekce spojená s adaptací na hypoxii</b>	12
2.2.2	<b>Kardioprotekce spojená s adaptací na zvýšenou fyzickou zátěž</b>	13
2.2.3	<b>Další vlivy adaptace na hypoxii a zvýšenou fyzickou zátěž</b>	14
2.3	<b>Hodnocení funkčního stavu a geometrie srdce pomocí echokardiografie u laboratorního potkana</b>	15
2.3.1	<b>Fyzikální princip echokardiografie</b>	16
2.3.2	<b>Zobrazovací principy echokardiografie</b>	18
2.3.3	<b>Echokardiografické parametry a jejich význam pro hodnocení srdeční funkce</b>	20
2.3.3.1	<b>Základní echokardiografické parametry</b>	20
2.3.3.2	<b>Odvozené echokardiografické parametry</b>	23
2.3.3.3	<b>Fyziologický význam změn echokardiografických parametrů</b>	28
2.3.4	<b>Vliv anestezie na echokardiografická měření</b>	31
2.3.5	<b>Cíle diplomové práce</b>	33
3	<b><u>Materiály a metody</u></b>	34
3.1	<b>Echokardiografické vyšetření laboratorního potkana</b>	34
3.1.1	<b>Anestezie</b>	34
3.1.2	<b>Tělesná teplota a tepová frekvence</b>	34
3.1.3	<b>Vlastní echokardiografické vyšetření</b>	35
3.1.4	<b>Vyhodnocení echokardiografických vyšetření</b>	35
3.1.4.1	<b>Hodnocení základních echokardiografických parametrů</b>	35
3.1.4.2	<b>Hodnocení odvozených echokardiografických parametrů</b>	36
3.2	<b>Experimentální modely</b>	36
3.2.1	<b>Model intermitentní hypobarické hypoxie</b>	37
3.2.1.1	<b>Experimentální skupiny</b>	37

3.2.1.2	<b>Protokol intermitentní hypobarické hypoxie a echokardiografických vyšetření</b>	37
3.2.2	<b>Model nuceného běhání</b>	38
3.2.2.1	<b>Experimentální skupiny</b>	38
3.2.2.2	<b>Protokol nuceného běhání a echokardiografických vyšetření</b>	38
3.3	<b>Statistické a grafické zpracování dat</b>	39
4	<b><u>Výsledky</u></b>	40
4.1	<b>Adaptace na hypobarickou hypoxii</b>	40
4.2	<b>Adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž</b>	49
5	<b><u>Diskuze</u></b>	55
6	<b><u>Závěr</u></b>	60
7	<b><u>Použitá literatura</u></b>	61

## Seznam použitých zkratk

A		maximální rychlost proudění krve při aktivním plnění levé srdeční komory
AWT	anterior wall thickness	tloušťka přední stěny levé srdeční komory
AWT <sub>d</sub>		tloušťka přední stěny levé srdeční komory v diastole
AWT <sub>s</sub>		tloušťka přední stěny levé srdeční komory v systole
AWTh	anterior wall thickening	relativní ztlustění přední stěny levé srdeční komory
BB		experimentální skupina adaptovaná na zvýšenou fyzickou zátěž
BB <sub>x</sub>		hodnota konkrétního parametru zjištěná u skupiny BB v X-tém týdnu experimentu
BC		kontrolní skupina ke skupině adaptované na zvýšenou fyzickou zátěž
BC <sub>x</sub>		hodnota konkrétního parametru zjištěná u skupiny BC v X-tém týdnu experimentu
BW	body weight	tělesná hmotnost
CI	cardiac index	index srdečního výdeje
CO	cardiac output	srdeční výdej
E		maximální rychlost proudění krve při pasivním plnění levé srdeční komory
EF		ejekční frakce
EKG		elektrokardiogram
FS	fraction shortening	frakční zkrácení
HC		kontrolní skupina ke skupině adaptované na chronickou hypoxii
HC <sub>x</sub>		hodnota konkrétního parametru zjištěná u skupiny HC v X-tém týdnu experimentu
HH		experimentální skupina adaptovaná na intermitentní hypobarickou hypoxii
HH <sub>x</sub>		hodnota konkrétního parametru zjištěná u skupiny HH v X-tém týdnu experimentu



HR	heart rate	tepová frekvence
IVCT	isovolumic contraction time	doba isovolumické kontrakce
IVRT	isovolumic relaxation time	doba isovolumické relaxace
LV	left ventricle	levá srdeční komora
LVD	left ventricle diameter	rozměr dutiny levé srdeční komory
LVD <sub>d</sub>		rozměr dutiny levé srdeční komory v diastole
LVD <sub>s</sub>		rozměr dutiny levé srdeční komory v systole
LVL	left ventricle length	délka dutiny levé srdeční komory
LVM	left ventricle mass	hmotnost levé komory srdce
LVMI	left ventricle mass index	index hmotnosti levé srdeční komory
LVV	left ventricle volume	objem dutiny levé srdeční komory
M-mód		„movement“ zobrazovací mód
MPI	myocardial performance index	index srdečního výkonu
MS	midwall shortening	zkrácení středu stěny levé srdeční komory
NMR		nukleární magnetická rezonance
NO		oxid dusnatý
PWT	posterior wall thickness	tloušťka zadní stěny levé srdeční komory
PWT <sub>d</sub>		tloušťka zadní stěny levé srdeční komory v diastole
PWT <sub>s</sub>		tloušťka zadní stěny levé srdeční komory v systole
PWTh	posterior wall thickening	relativní ztlustění zadní stěny levé srdeční komory
RWT	relative wall thickness	relativní tloušťka stěn levé komory srdce
SD		Sprague-Dawley – kmen potkanů
SEM	standart error of the mean	střední chyba průměru
SHR	spontaneously hypertensive rat	spontánně hypertenzní potkan - kmen potkanů
SV	stroke volume	tepový objem
TDI	tissue-doppler imaging	tkáňově-dopplerovská zobrazení
VO <sub>2max</sub>		maximální spotřeba kyslíku

$V_{\max}$		maximální rychlost toku krve
VTI	velocity time integral	časový integrál rychlosti průtoku
W		Wistar – kmen potkanů
WKY		Wistar Kyoto – kmen potkanů
WMSI	wall motion score index	index pohyblivosti srdečních stěn

## **1. Úvod**

Kardiovaskulární choroby jsou hlavní příčinou úmrtí ve vyspělých zemích včetně České republiky. Celosvětově na tato onemocnění umírá více než 17 milionů lidí každý rok. Z řady kardiovaskulárních chorob patří k nejzávažnějším zejména ischemická choroba srdeční a její akutní forma, infarkt myokardu. Vzhledem k tomu, že rozsah ischemického poškození je závislý jak na délce ischemie, tak na odolnosti srdce vůči ischemii, je studium mechanismů této odolnosti a možností jejího zvýšení významnou oblastí kardiovaskulárního výzkumu. V literatuře je popisována řada zásahů, pomocí kterých lze odolnost vůči ischemickému poškození zvýšit; hovoříme přitom o kardioprotektivních fenoménech. Velká pozornost je v současnosti věnována dlouhodobé kardioprotekci spojené s adaptací na hypoxii nebo zvýšenou fyzickou zátěž.

Používané protokoly adaptace na hypoxii a zvýšenou fyzickou zátěž potkanů jsou spojené s různým stupněm hemodynamické zátěže a při překročení určité intenzity by mohly vést k nežádoucím vedlejším vlivům na funkci srdce. U konkrétních protokolů je proto potřeba tyto nežádoucí změny ověřit sledováním vývoje funkčních charakteristik srdeční činnosti při různých stupních zátěže. Ideálním nástrojem pro takové studie je echokardiografické vyšetření, které umožňuje longitudinální hodnocení geometrie i funkčních parametrů srdce u stejného jedince.

Tato diplomová práce se věnuje problematice určení možného negativního vlivu adaptace na zvyšující se stupeň intermitentní hypobarické hypoxie a na konkrétní protokol zvýšené fyzické zátěže. Oba modely adaptace jsou používány na Oddělení vývojové kardiologie Fyziologického ústavu Akademie věd ČR ke studiu mechanismů kardioprotekce. Výsledky této práce proto mohou přispět ke komplexnějšímu popisu těchto experimentálních modelů a doplnit výsledky studia uvedených kardioprotektivních fenoménů.

## **2. Literární přehled**

### **2.1 Funkce srdce**

Srdce je centrálním orgánem oběhové soustavy, ve které plní roli komorového čerpadla. Rozdělení srdce na levou a pravou část umožňuje oddělení plicního (malého) a tělního (velkého) krevního oběhu a zvyšuje efektivitu výměny krevních plynů s vnějším prostředím. Levé i pravé srdce jsou členěny na síň a komoru, které jsou navzájem odděleny srdečními chlopněmi. Ke správné činnosti srdce je nutná synchronizace kontrakcí jednotlivých srdečních oddílů, což je zajištěno díky převodnímu systému srdce a schopnosti navzájem propojený kardiomyocytů jednosměrně vést akční potenciál. Toto uspořádání zvyšuje účinnost čerpání krve a usměrňuje její tok v požadovaném směru. Hlavním výsledkem činnosti srdce je tak neustálý průtok krve tkáněmi, který umožňuje permanentní látkovou výměnu. Srdeční činnost je neustálá a kriticky důležitá pro zajištění metabolických potřeb a funkce celého organismu.

Metabolismus myokardu je aerobní a ke správné funkci srdce je proto nutné jeho dostatečné prokrvení. Případná ischemie, způsobená např. okluzí cévního řečiště z důvodu sklerotických změn, vede k akutnímu nedostatku kyslíku a energetických substrátů, hromadění metabolitů a výraznému narušení buněčné homeostázy. V ischemickém myokardu již v řádu vteřin dochází k inhibici aerobních metabolických drah, ke kumulaci laktátu a narušení iontové rovnováhy. Zejména uvolňování  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do cytosolu a mitochondrií (tzv. vápníkové přetížení) může mít za následek poškození buněk a buněčnou smrt. Vzhledem k tomu, že funkcí kardiomyocytu je zajištění srdeční kontrakce, ale také její synchronizace, může i lokální narušení krevního zásobení myokardu vést k výraznému ovlivnění celkové schopnosti srdce zajišťovat cirkulaci krve. Přestože kardiomyocyty nejsou buňkami nejcitlivějšími k ischemii, jejich poškození tak může vést až k ohrožení života.

Celkové poškození myokardu přitom závisí nejen na délce ischemie a způsobu následné reperfuze, ale také na vlastní odolnosti myokardu vůči ischemickému poškození. Možnosti zvýšení odolnosti srdce vůči ischemickému poškození jsou proto dlouhodobě intenzivně studovanou problematikou s významným dopadem na klinickou praxi.

## 2.2 Kardioprotekce

Kardioprotektivní působení spočívá v ochraně myokardu před poškozením způsobeným ischemií v důsledku omezeného průtoku krve koronárními cévami. Projevuje se zejména zmenšením rozsahu infarktového ložiska myokardu, zmírněním postischemické kontraktilní dysfunkce, či omezením výskytu srdečních arytmií při ischemicko-reperfúzním inzultu. Kardioprotekce je schopna oddálit nástup ischemického poškození tkáně, není však schopna tomuto poškození zabránit při dlouhodobé ischemii (Murry et al. 1986, Ovize et al. 2010, Yellon a Downey 2003). Kardioprotektivně přitom působí celá řada zásahů, například tzv. preconditioning indukovaný krátkodobou ischemií, či jiným zásahem, před následnou déletrvající ischemií. Z hlediska využití v klinické praxi, kde nelze přesně předvídat vznik ischemie, je limitujícím faktorem relativně krátkodobý efekt kardioprotekce a potřebná synchronizace kardioprotektivního zásahu a následné ischemie, stejně jako negativní role věku pacientů (Abete et al. 1996, Paert et al. 2007) či ovlivnění léky a dalšími faktory (Jancso et al. 2005, Watanabe et al. 2006). Proto je snaha o nalezení déle působících mechanismů kardioprotekce.

K prodloužení kardioprotektivního efektu může vést chronický preconditioning opioidy (Peart a Headrick 2008), dlouhodobá stimulace  $\delta$ -opioidních receptorů (Gross et al. 2005), či zvýšená exprese inducibilní NO syntázy (Li et al. 2005). Největší potenciál pro klinické využití však v současné době představuje kardioprotekce spojená s adaptací na hypoxii nebo zvýšenou fyzickou zátěž. Výhodou těchto typů kardioprotekce je, že jsou v principu přirozené a jednoduše aplikovatelné. V experimentálních podmínkách byl déletrvající kardioprotektivní efekt adaptace zjištěn jak u chronické hypoxie (Neckář et al. 2004), tak u zvýšené fyzické zátěže (Esposito et al. 2011).

### 2.2.1 Kardioprotekce spojená s adaptací na hypoxii

Význam přirozené výškové (tedy hypobarické) hypoxie, zejména u populací, které v těchto podmínkách trvale žijí, byl ve druhé polovině minulého století popsán v řadě epidemiologických studií. Z prací Hurtada (1960) či Mortimera et al. (1977) vyplývá, že adaptace na tyto podmínky je spojena s nižším prevalencí kardiovaskulárních chorob i jejich mírnějšími následky, obvykle je ale doprovázena rozvojem plicní hypertenze s

následnou hypertrofií pravé srdeční komory. První experimentální studie zabývající se zvýšenou odolností myokardu v důsledku adaptace na chronickou hypoxii pochází již z poloviny minulého století (Kopecký a Daum 1958).

V experimentální praxi je dnes používána řada protokolů adaptace na hypoxii, simulují výstup do vyšších nadmořských výšek, pobyt v nich, poruchy dýchání (spánková apnoe), či patofyziologických situací (obstrukce dýchacích cest, či vrozené srdeční vady). Kardioprotektivní efekt je však spojen pouze s některými protokoly, jak ukazuje souhrn výsledků vybraných studií v tabulce 1. Záleží přitom na intenzitě hypoxie, délce jednorázové či kontinuální expozice, ale také na metodách, jakými je kardioprotektivní efekt zjišťován.

**Tabulka 1 – Vybrané protokoly adaptace na hypoxii a jejich projevy**

Zdroj	Typ hypoxie	Zjištěný vliv
Asemu et al. 2000	Intermitentní hypobarická (5000 m, 4 hodiny denně, 2-5 týdnů)	Menší počet předčasných komorových stahů
	Intermitentní hypobarická (5000 m, 8 hodin denně, 2-5 týdnů)	Větší počet předčasných komorových stahů
	Intermitentní hypobarická (7000 m, 8 hodin denně, 5 týdnů)	Hypertrofie levé komory, více předčasných komorových stahů
Yuan et al. 2008	Chronická kontinuální	Menší změny hemodynamické funkce při akutní ischemii
	Intermitentní hypobarická (5000 m, 6 hodin denně, 28 nebo 42 dní)	Lepší obnovení hemodynamické funkce po ischemickém infarktu
Neckář et al. 2004	Intermitentní hypobarická (7000 m, 8 hodin denně, 5 týdnů)	Zmenšení rozsahu infarktu myokardu
Neckář et al. 2003	Chronická normobarická (10% O <sub>2</sub> , 3 týdny)	Zmenšení rozsahu infarktu myokardu
Béguin et al. 2005	Chronická intermitentní (40s hypoxie, 20s normoxie, 8 hodin denně, 35 dní)	Zvýšení citlivosti k ischemii

## 2.2.2 Kardioprotekce spojená s adaptací na zvýšenou fyzickou zátěž

Pozitivním vlivem fyzické zátěže na výskyt a závažnost kardiovaskulárních onemocnění se zabývá řada epidemiologických studií. Z práce Morrise et al. (1980) vyplývá, že cvičení může snížit jak výskyt chronické ischemické choroby, tak následky akutní ischemie. Zároveň bylo prokázáno, že již mírná fyzická aktivita vede k poklesu úmrtnosti spojené s kardiovaskulárními chorobami (Paffenbarger et al. 1993). První studie zabývající se kardioprotekcí spojenou s adaptací na zvýšenou fyzickou zátěž u experimentálních zvířat, konkrétně s plaváním u potkanů, byla publikována před 35 lety. Kardioprotekce se v tomto případě projevila relativním zmenšením infarktu myokardu o

30% po permanentní okluzi koronární tepny (McElroy et al. 1978). K obdobným výsledkům dospěla řada dalších prací, a to jak u samců (Freimann et al. 2005, Chaves et al. 2006), tak u samic (Brown et al. 2003, Hamilton et al. 2003) laboratorních zvířat, v podmínkách in vivo (Hoshida et al. 2002, McElroy et al. 1978) i in vitro (Chaves et al. 2006, Chico et al. 2008), přičemž zvýšená fyzická zátěž byla navozena různými způsoby. Ve studiích na potkanech jsou nejčastěji používány protokoly zvýšené fyzické zátěže formou nuceného běhání rychlostí  $30 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ , což odpovídá přibližně 75 % maximální spotřeby kyslíku ( $\text{VO}_{2\text{max}}$ ) (Lennon et al. 2004). Protokoly se mohou výrazně lišit rychlostí, jakou zvířata běhají, nakloněním roviny běhu, délkou či počtem jednotlivých epizod. V současné době přitom není jasně definována hranice intenzity fyzické zátěže, při které je již kardioprotektivní vliv adaptace zjištěitelný; z dostupných výsledků vyplývá, že tato kritická hodnota se bude pohybovat okolo 60%  $\text{V}_{\text{O}_{2\text{max}}}$ . Výsledky vybraných prací jsou uvedeny v tabulce 2.

**Tabulka 2 – Vybrané protokoly adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž a jejich kardioprotektivní vliv**

Zdroj	Typ zátěže	Intenzita	Projev kardioprotekce
Brown et al. 2003	Pohyblivý pás	$29 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ , 60 minut, 5 dní v týdnu, 20 týdnů	Zmenšení rozsahu infarktu o 25-35%
Hamilton et al. 2003	Pohyblivý pás	$30 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ , 60 minut, 5 dní v týdnu, 1 týden	Zmenšení rozsahu infarktu, zlepšení tlaku vyvinutého levou komorou
Chaves et al. 2006	Pohyblivý pás	$10\text{-}35 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ , 60 minut, 10 týdnů	Výrazně lepší hodnota systolického tlaku než u kontrol (70 vs. 20% normální hodnoty)
Chicco et al. 2008	Pohyblivý pás	$14 \text{ m} \cdot \text{min}^{-1}$ , 45 min, 3 dny v týdnu	Oddálení nástupu srdečního selhání u hypertenzních potkanů
McElroy et al. 1978	Plavání	60 minut, 5 dní v týdnu, 5 týdnů	Zmenšení rozsahu infarktu o 30%

### 2.2.3 Další vlivy adaptace na hypoxii a zvýšenou fyzickou zátěž

Adaptace na hypoxii nebo zvýšenou fyzickou zátěž může být spojena nejen s kardioprotektivním působením, ale s celou řadou dalších změn. Například adaptace na chronickou hypoxii je jak u laboratorních zvířat (Hampl a Herget 2000), tak u lidí (Hurtado 1960), spojena s rozvojem pulmonální hypertenze, která může vést k hypertrofii pravé srdeční komory. Práce Yuana et al. (2008) přitom naznačuje, že hypertrofie pravé komory

není spojena s adaptací na intermitentní hypobarickou hypoxii vždy. Pobyt v hypoxickém prostředí vede také ke koronární angiogenezi a zvýšené erytropoéze (Xu et al. 2011). V případě adaptace na příliš intenzivní fyzickou zátěž dochází k rozvoji hypertrofie levé komory a fibrotizaci srdeční tkáně (Gay-Jordi et al. 2013). Přiměřená fyzická zátěž naopak vede ke zlepšení diastolické funkce levé komory u starších potkanů na úroveň srovnatelnou s mladšími jedinci (Brenner et al. 2001). Obdobný pozitivní vliv byl pozorován i na funkci papilárních svalů u starších potkanů (Maifrino et al. 2009). Pozitivní vliv na srdeční funkci byl zjištěn i u samic SHR potkanů v počáteční, kompenzované, fázi hypertrofie levé komory (Libonati et al. 2011). V případě rozvoje srdečního selhání však zvýšená fyzická zátěž vede k dalšímu zhoršení hypertrofie a funkce srdce (Wisløff et al. 2001).

### **2.3 Hodnocení funkčního stavu a geometrie srdce pomocí echokardiografie u laboratorního potkana**

Předmětem zájmu kardiologického výzkumu je studium mechanismů ovlivňujících funkci kardiovaskulárního systému, rizikových faktorů, prevence a možností léčby a ochrany myokardu. V podmínkách experimentální kardiologie se k tomu používá řada modelů s využitím laboratorních zvířat, nejčastěji potkanů a myší.

Metody hodnocení funkce a geometrie srdce lze rozdělit na invazivní (např. Langendorfov preparát, měření srdeční funkce u anestetizovaných zvířat při otevřeném hrudníku) a neinvazivní (zejména transtorakální echokardiografie a nukleární magnetická rezonance - NMR). Hlavní výhodou neinvazivních metod je přitom možnost opakování měření u stejného jedince a jde tedy o ideální nástroje pro sledování dlouhodobého vývoje změn funkce a geometrie srdce a jejich hodnocení při měnících se podmínkách, např. při postupně se zvyšující zátěži. Echokardiografie je přitom, ve srovnání s NMR, výrazně méně finančně, technologicky i metodicky náročná, a přitom poskytuje srovnatelnou kvalitu a přesnost měření.

Metodika echokardiografických měření vychází z metod původně určených pro klinickou praxi a postupně se rozvíjela a upravovala pro potřeby experimentální práce na zvířatech, s tím, jak se vyvíjely technické možnosti echokardiografických přístrojů. Dosud se v experimentu používají převážně přístroje určené pro klinické použití (až na výjimku ryze experimentálních echokardiografických přístrojů kanadské firmy VisualSonics) a měření na srdci malých laboratorních zvířat leží často na hranici jejich technických



možností. S ohledem na potřebu neinvazivních metod měření a možnosti longitudinálního sledování probíhajících změn po experimentálním zásahu, je echokardiografie i v těchto podmínkách rozšířeným a nezastupitelným způsobem hodnocení srdeční funkce.

### 2.3.1 Fyzikální princip echokardiografie

Fyzikální principy, které se uplatňují při ultrazvukových vyšetřeních, vycházejí z vlastností zvuku a jeho interakcí s prostředím, kterým se šíří. Zvuk je mechanické vlnění vyvolané vzájemným elastickým rozkmitáním částic a v homogenním prostředí se šíří v podobě soustředných vlnoploch. Jakékoli vlnění lze přitom popsat pomocí základních charakteristik: frekvence ( $f$ ), vlnová délka ( $\lambda$ ), rychlost šíření ( $c$ ) a amplituda ( $a$ ). Frekvence vlnění je dána počtem period za sekundu a její základní jednotkou je hertz (Hz). V případě ultrazvuku hovoříme o zvuku s frekvencí vyšší než 20 kHz, tedy nad člověkem běžně slyšitelnou hranicí, u echokardiografie pak jde o zvukové vlny s frekvencí v řádu jednotek až desítek megahertz. Vlnová délka je určena nejmenší vzdáleností dvou úseků vlnění, kmitajících se stejnou fází, respektive vzdáleností, jakou vlnění urazí během jedné periody. Zásadní význam má vlnová délka pro rozlišovací schopnost echokardiografických zobrazení. Teoretický limit rozlišovacích schopností v závislosti na vlnové délce je dán Abbeho difrakčním limitem (rovnice 1) a u moderních mikroskopů dosahuje hodnot cca  $\lambda/2,8$  u ultrazvukových přístrojů však obvykle nepřesahuje hodnoty nižší než cca  $2 \cdot \lambda$ .

$$d = \frac{\lambda}{2 \cdot n \cdot \sin \theta}$$

Rovnice 1 – **Vztah pro Abbeho difrakční limit.** Kde  $d$  je velikost zobrazeného bodu, respektive limitní rozlišovací schopnost,  $\lambda$  je vlnové délka vlnění (světla nebo zvuku),  $n$  je refrakční index prostředí, kterým se vlnění šíří a  $\theta$  je úhel, pod kterým se vlnění šíří k zobrazovanému bodu.

Rychlost šíření zvuku prostředím je výrazně ovlivněna kompaktností prostředí a lze ji odvodit z frekvence a vlnové délky pomocí rovnice 2. Zatímco ve vzduchu se zvuk šíří rychlostí okolo  $340 \text{ m.s}^{-1}$ , v měkkých tkáních je tato rychlost zhruba  $1550 \text{ m.s}^{-1}$  a v kostech přibližně  $4\,000 \text{ m.s}^{-1}$ .

$$c = f \cdot \lambda$$

Rovnice 2 – **Vztah mezi frekvencí ( $f$ ), vlnovou délkou ( $\lambda$ ) a rychlostí šíření ( $c$ ) vlnění.**

Při průchodu ultrazvuku prostředím dochází k vzájemným interakcím, které výrazně ovlivňují vlastnosti vlnění. Mezi základní interakce patří odraz, lom, rozptyl, ohyb, oslabení a Dopplerův posun.

Odraz a lom nastávají na rozhraních s rozdílnou akustickou impedancí ( $Z$ ), v biologických systémech tato situace nastává obvykle na rozhraní orgánů či tkání. Akustická impedance prostředí je dle rovnice 3 dána rychlostí šíření zvuku v prostředí a jeho hustotou. V případě lomu se při průchodu rozhraním dvou prostředí mění směr šíření vlnění podle Snellova zákona. K odrazu dochází do určité míry vždy, a to tím více, čím je větší rozdíl mezi akustickými impedancemi obou prostředí na rozhraní. Ze Snellova zákona zároveň vyplývá, že pokud vlnění dopadá na rozhraní pod tzv. mezním úhlem či pod úhlem větším, dochází k odrazu veškerého dopadajícího vlnění. V echokardiografické praxi tento fenomén vede k obtížné detekci struktur, jejichž povrch je přibližně rovnoběžný se směrem šíření zvuku.

$$Z = \rho \cdot c$$

**Rovnice 3 – Vztah mezi akustickou impedancí ( $Z$ ), hustotou prostředí ( $\rho$ ) a rychlostí šíření zvuku v prostředí ( $c$ ).**

K rozptylu a ohybu vlnění dochází v případě, že se šíří prostředím, ve kterém jsou struktury velikostí srovnatelné s vlnovou délkou ultrazvuku. V závislosti na použité vyšetřovací sondě jde o struktury o velikostech řádově desetin milimetrů. Dle Huyghensova-Fresnelova principu se pak každý bod, kterým prochází vlnění, stává zdrojem elementárního vlnění, a to se z něj dále šíří do všech směrů. Výsledný směr šíření vlnoplochy se proto může lišit od směru původního.

Oslabení vlnění, neboli útlum signálu, nastává při šíření v jakémkoliv prostředí a je způsobeno přeměnou energie vlnění na tepelnou energii prostředí, kterým se šíří. Míra oslabení lze vyjádřit změnou akustického tlaku v závislosti na frekvenci vlnění a absorpční konstantě  $\alpha$  (rovnice 4).

$$p(x) = p_0 \cdot e^{-\alpha \cdot f \cdot x}$$

**Rovnice 4 – Vztah pro určení akustického tlaku podle vzdálenosti od zdroje.** Kde  $p_0$  je akustický tlak v místě zdroje,  $x$  je vzdálenost od zdroje,  $p(x)$  je akustický tlak ve vzdálenosti  $x$  od zdroje,  $f$  je frekvence vlnění a  $\alpha$  je absorpční konstanta.

Dopplerův efekt (Doppler 1842) je pro echokardiografické vyšetření velmi významný fenomén, který umožňuje určit rychlost proudění krve nebo pohybu tkáně. Podstatou tohoto principu je změna pozorované a vysílané frekvence vlnění (obvykle zvuku nebo světla) v případě, že jsou zdroj a pozorovatel ve vzájemném pohybu. Platí přitom rovnice 5.

$$\Delta f = \frac{\Delta v}{c} \cdot f_0$$

Rovnice 5 – **Vztah mezi změnou vysílané a detekované frekvence vlnění a rychlostí vzájemného pohybu zdroje a pozorovatele vlnění.**  $\Delta f$  je změna frekvence zvuku,  $\Delta v$  je vzájemná rychlost zdroje a pozorovatele,  $c$  je rychlost šíření zvuku v prostředí a  $f_0$  je frekvence vysílaného zvuku

Z výše uvedených interakcí mezi zvukem a prostředím a dále z konstrukce ultrazvukových sond vyplývají základní omezení a rozlišovací možnosti echokardiologie. Rozlišení lze dělit na axiální, laterální a elevační. Axiální rozlišení je v ose sondy, tedy v ose přímého šíření zvukových vln, je z uvedených rozlišení nejlepší a dosahuje obvykle hodnot větších než  $\lambda$  (tedy pro měkké tkáně zhruba 0,075 mm pro sondu s frekvencí 20 MHz nebo 0,6 mm pro frekvenci 2,5 MHz). Laterální rozlišení je v rovině kolmé ke směru šíření zvuku a obvykle dosahuje hodnot 2-3  $\lambda$ . Elevační rozlišení vyjadřuje schopnost odlišit od sebe rovinu nad nebo pod zobrazovanou rovinou, závisí na frekvenci sondy a fokusaci ultrazvukového signálu. Nízké elevační rozlišení může vést ke vzniku obrazových artefaktů. (Upraveno z monografie Linhart et al. 2002)

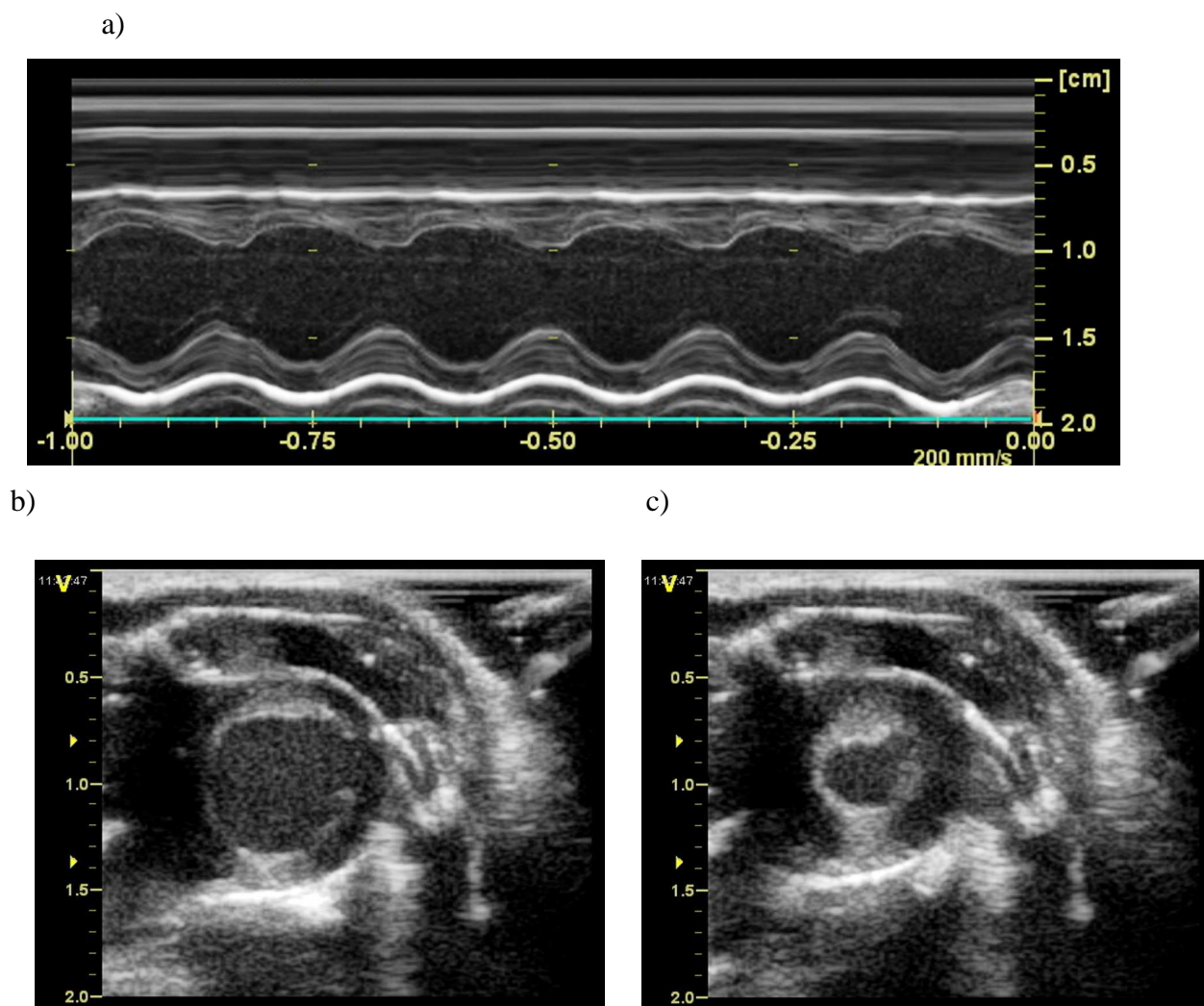
### 2.3.2 Zobrazovací principy echokardiografie

Díky výše uvedeným fyzikálním principům je ultrazvukový signál modifikován a zpětně detekován. Změny signálu jsou vyhodnoceny a obvykle převedeny na obrazovou informaci. Jako zdroj i detektor signálu přitom slouží piezokrystaly, což jsou materiály složené z iontů s krystalickým uspořádáním. V těchto látkách při deformaci (vlivem akustického, respektive mechanického tlaku) dochází k deformaci krystalické mřížky a posunu nábojů, což má za následek změnu elektrického pole a vznik elektrického potenciálu. Na základě stejného principu lze pomocí elektrických impulzů tyto látky

mechanicky deformovat a emitovat tak akustický signál. Piezokrystaly proto v sonografických přístrojích mohou sloužit jako zdroj i detektor akustického signálu.

Existuje několik způsobů, jakými lze zobrazovat výsledky měření, hovoříme o tzv. módech. Historicky nejpůvodnější je amplitudový mód, neboli A-mód, který pomocí osciloskopu zobrazoval amplitudu odražené složky akustického pulzu v průběhu času, vzdálenost na časové ose přitom odpovídala vzdálenosti místa odrazu od sondy. Dnes se již A-mód v klinické ani experimentální praxi nepoužívá. Další způsobem zobrazení je movement mód, neboli M-mód. Tento zobrazovací princip, obdobně jako A-mód, vychází ze zobrazování amplitudy detekovaného signálu v určité vzdálenosti, odpovídající vzdálenosti zobrazované struktury od sondy. Není přitom zobrazována přímo amplituda, ta je převáděna na konkrétní odstín na barevné škále (obvykle v odstínech šedi). Zároveň je v M-módu měření opakováno s určitou frekvencí a jednotlivá měření jsou zobrazována vedle sebe. Vzniká tak kontinuální časový průběh zobrazení dané struktury v jedné přímce (viz obraz 1a). Brightness mód, označovaný také jako B-mód nebo 2D-mód, je v sonografii nejčastěji používaný zobrazovací princip (viz obraz 1b a c). Ve 2D-módu je struktura, stejně jako v M-módu, zobrazována pomocí barevných odstínů odpovídajících amplitudě detekovaného signálu. Zobrazován je přitom plošný průřez danou strukturou (proto 2D). Samotný 2D obraz průřezu je obvykle rekonstruován buď z několika po sobě rychle následujících měření v jednotlivých úhlových výsečích zorného pole, nebo ze současných měření pomocí více sond orientovaných v různých směrech. Dopplerovská zobrazení jsou dvojího typu. V prvním případě je možné zobrazit rychlost průtoku krve ve vybrané oblasti v závislosti na čase (viz obraz 3 v kapitole na straně 23). V druhém případě je zobrazení rychlosti toku krve kombinováno s 2D-módem v reálním čase nebo s M-módem.

Mezi méně obvyklé a velmi pokročilé zobrazovací metody v posledních letech přibýly tkáňově-dopplerovská zobrazení (TDI), vycházející z předpokladu, že pohyb tkáně je výrazně pomalejší než pohyb krve a lze je tedy vzájemně rozlišit. Toho lze v echokardiografii využít zejména k hodnocení dynamiky srdeční stěny. Kontrastní echokardiografie využívá ultrazvukově kontrastní látky ke zvýraznění některých struktur a zvýšení kvality zobrazení při lokalizaci konkrétních struktur nebo poškození. 3D-zobrazovací metody používají měření v různých rovinách a následnou digitální rekonstrukci trojrozměrné struktury tkání.



**Obraz 1 – Zobrazení levé komory a) v M-módu a ve 2D-módu b) v diastole a c) v systole**

### **3.3 Echokardiografické parametry a jejich význam pro hodnocení srdeční funkce**

#### **2.3.3.1 Základní echokardiografické parametry**

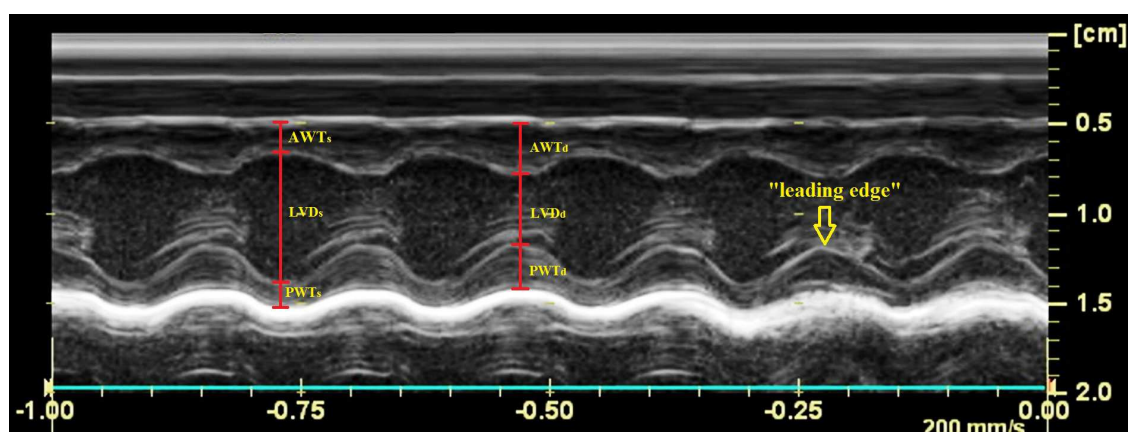
Základní echokardiografické parametry jsou přímo měřitelné ze záznamů vyšetření a lze je rozdělit na parametry geometrické (rozměry srdečních stěn, srdečních komor, atd.), průtokové parametry (rychlost a zrychlení průtoku krve) a časové (doba trvání definovaných úseků srdeční akce). Ukazatele geometrie komor se obvykle zjišťují na konci diastoly a systoly. Tyto okamžiky lze určit ze souběžně zaznamenávaného EKG signálu; pro potřeby echokardiografie u potkanů a myší je za konec diastoly, respektive systoly,

obvykle považována fáze srdečního cyklu s minimálním, respektive maximálním, rozměrem dutiny levé komory srdeční. Pro zobrazení a měření srdečních komor jsou nejčastěji používány parasternální pohled v dlouhé a krátké ose pomocí 2D-módu nebo parasternální zobrazení v dlouhé a krátké ose pomocí 2D-módem naváděného M-módu.

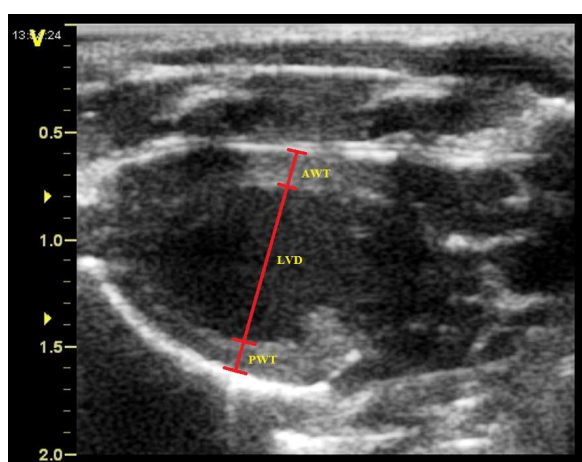
Nejčastěji měřenými echokardiografickými parametry srdeční geometrie jsou **diastolický a systolický rozměr dutiny levé komory srdeční** ( $LVD_d$  a  $LVD_s$ ). Ve 2D-módu je tento rozměr určován na úrovni papilárních svalů, tedy v oblasti, kde je šířka komory největší, v M-módu jsou tyto hodnoty určovány pomocí pravidla tzv. leading edge, tedy podle průběžné linie, která v tomto případě reprezentuje hranici endokardu (viz obraz 2a). Jsou zjišťovány také **diastolické a systolické rozměry přední, respektive zadní, stěny levé komory** ( $AWT_d$  a  $AWT_s$ , respektive  $PWT_d$  a  $PWT_s$ ). Jakým způsobem jsou určovány jednotlivé rozměry výše uvedených geometrických parametrů je demonstrováno na obrazech 2a, 2b a 2c. Dále může být určen rozměr aorty, a to zpravidla ve stejném místě, ve kterém je měřen průtok aortou (buď na úrovni aortálního annulu, nebo za aortální chlopni). Geometrie pravé komory je nejčastěji hodnocena pomocí parasternálního pohledu v krátké ose, nebo pomocí 4-dutinového apikálního pohledu, v obou případech ve 2D-módu (Jones et al. 2002).

Průtokové parametry jsou nejčastěji určovány pro průtoky na mitrální chlopni, v plicnici a ve vzestupné větvi aorty. Průtok na mitrální chlopni se zaznamenává pomocí 4-dutinového apikálního nebo 5-dutinového pohledu. Z průtokové křivky jsou odečítány parametry **maximální rychlosti krve při pasivním (časném) plnění levé komory** (E) a **maximální rychlosti při aktivním (pozdním) plnění** (A), čas a zrychlení při poklesu rychlosti proudění krve z hodnoty E, **doba isovolumické relaxace** (IVRT), **doba isovolumické kontrakce** (IVCT) a celkový **časový integrál průtoku** (VTI). Vyšetřován je také průtok krve v aortě nebo v plicnici, v obou případech jsou pak zjišťovány hodnoty **maximální rychlosti průtoku** ( $V_{max}$ ) nebo celkový integrál průtoku krve za čas. Jakým způsobem jsou hodnoceny vybrané časové a průtokové parametry je demonstrováno na obrazech 3.

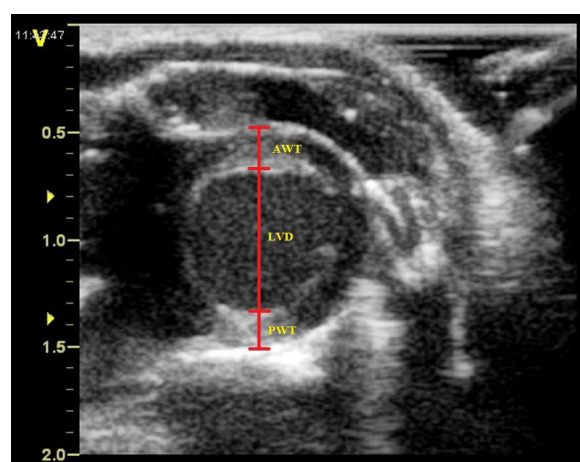
a)



b)



c)

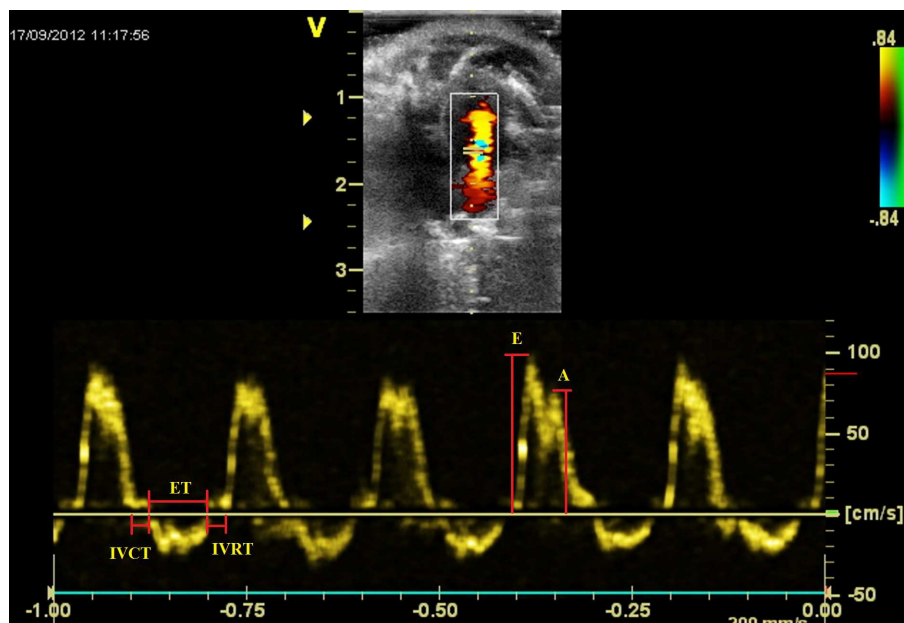


Obraz 2 – Způsob určení základních echokardiografických parametrů srdeční geometrie a) v M-módu, b) v krátké ose ve 2D-módu a c) v dlouhé ose ve 2D módu

Tabulka 3 – Obvyklé hodnoty základních echokardiografických parametrů u laboratorních potkanů

LVD<sub>d</sub> a LVD<sub>s</sub> - rozměr dutiny levé srdeční komory v diastole a systole; AWT<sub>d</sub> – tloušťka přední stěny levé komory v diastole; PWT<sub>d</sub> - tloušťka zadní stěny levé komory v diastole; BW – tělesná hmotnost

Zdroj	Kmen	LVD <sub>d</sub> [mm]	LVD <sub>s</sub> [mm]	AWT <sub>d</sub> [mm]	PWT <sub>d</sub> [mm]	BW [g]
Haas et al. 1995	WKY	7,7	3,8	1,7	1,6	413
Holinski et al. 2011	Lewis	7	4	2	2	347
Kim et al. 2011	SD	8,32	4,57	1,35	1,32	598
Reffellmann a Kloner 2003	W	7,3	3,7	1,72	1,8	404
Weytjens et al. 2006	W	7,67	4,57	1,8	1,9	503



Obraz 3 – Způsob hodnocení vybraných echokardiografických parametrů u záznamu průtoku krve mitrální chlopní (dopplerovské měření naváděné 2D-módem u 4-dutinového pohledu)

E – maximální rychlost průtoku při pasivním plnění levé komory; A – maximální rychlost průtoku při aktivním plnění levé komory; ET – ejekční část; IVCT – doba isovolumické kontrakce; IVRT – doba isovolumické relaxace

### 2.3.3.2 Odvozené echokardiografické parametry

Společným znakem všech odvozených echokardiografických parametrů je jejich určování ze základních echokardiografických parametrů pomocí definovaných vztahů a rovnic. Tyto rovnice obvykle odrážejí geometrickou podstatu parametru (například objem komory, nebo její hmotnost) nebo normalizují určitou veličinu (například relativní hmotnost levé komory, nebo frakční zkrácení). Řada odvozených echokardiografických parametrů vznikla pro potřeby diagnostiky v klinické praxi a byly dále upraveny pro měření u malých laboratorních zvířat, nebo vznikaly přímo pro potřeby experimentálních modelů. V této kapitole jsou uvedeny pouze nejčastěji používané odvozené echokardiografické parametry a způsob jejich určení.

**Frakční zkrácení** (FS – fraction shortening) je jedním z nejpoužívanějších odvozených echokardiografických parametrů (McDonald et al. 1972). Hodnota FS je vyjádřena poměrem rozdílu diastolického a systolického rozměru dutiny levé komory



( $LVD_d$  a  $LVD_s$ ) ku diastolickému objemu levé komory. Parametr FS je používán k hodnocení systolické funkce levé komory, jeho obvyklé hodnoty jsou uvedeny v tabulce 4.

$$FS = \frac{LVD_d - LVD_s}{LVD_d}$$

#### Rovnice 6 – Vztah pro výpočet frakčního zkrácení

**Objem dutiny levé komory srdeční v diastole a systole** ( $LVV_d$  a  $LVV_s$ ) lze použít jako samostatný hodnotící parametr, nebo k určení dalších parametrů.  $LVV$  je určován pomocí základních echokardiografických parametrů  $LVD$  a vztahů, které vyjadřují především aproximaci tvaru dutiny levé komory. Existuje několik takových přiblížení, které do různé míry odpovídají reálnému tvaru levé komory. Objem levé komory lze určit podle zjednodušené kubické rovnice (Freigenbaum et al. 1972). Reálný tvar lépe reflektuje cylindricko-eliptický model (tzv. area-length model), který vychází z hodnoty délky dutiny levé srdeční komory ( $LVL$ ), plochy příčného průřezu levé komory určené z  $LVD$  a koeficientu vyjadřujícího předpokládaný eliptický tvar (rovnice 7; Pombo et al. 1971). Cylindricko-eliptický model má dále několik variant, kdy je plocha průřezu zjišťována přímo, nebo je dopočítávána z předpokládaného kruhového průřezu komory pomocí vnitřního rozměru komory, dále je i délku komory možné určit přímo, nebo jí lze v některých aproximacích považovat za násobek šířky (Popp a Harrison. 1970). Velmi často je objem komory určován podle Teichholzovy rovnice (rovnice 8; Teichholz et al. 1976), ve které je zjevná geometrická aproximace nahrazena několika korelačními koeficienty. V klinické praxi, nebo v případech větší asymetrie levé komory, je používáno modifikované Simpsonovo pravidlo, podle něhož je  $LVV$  určen součtem objemů válců měřených v několika průřezích levé komory v krátké ose (Folland et al. 1979). K řadě geometrických aproximací patří i metoda zkráceného elipsoidu, které předpokládá zhruba vejčitý tvar levé srdeční komory (Schiller et al. 1989).

$$LVV = \frac{\pi}{6} \cdot LVD^2 \cdot L$$

#### Rovnice 7 – Vztah pro určení objemu dutiny levé komory srdeční pomocí area-length modelu

$$LVV = \frac{7 \cdot LVD^3}{2,4 + LVD}$$

Rovnice 8 – **Vztah pro určení objemu dutiny levé komory srdeční podle Teichholze**

Nepřímé určení **hmotnosti levé komory srdeční (LVM)** je velmi úzce spojeno s určením jejího objemu. Metody používané k echokardiografickému stanovení LVM vychází z řady geometrických aproximací a jsou také doplněny o korelační koeficienty. Ve srovnání s určením vnitřního objemu levé komory srdeční jsou v principu všechny metody určení LVM založeny na určení vnějšího objemu LV, následném odečtení objemu vnitřního a vynásobením hustotou tkáně. Nejčastěji je používána metoda kubické aproximace LVM (rovnice 9; Litwin et al. 1994). Další možností je použití area-length metody (Colins et al. 2001), nebo metody zkráceného elipsoidu (Schiller et al. 1989).

$$LVM = 1,04 \cdot ((LVD - AWT - PWT)^3 - LVD^3)$$

Rovnice 9 – **Vztah pro určení hmotnosti levé komory srdeční, tzv. kubická rovnice.**

Dalším obvyklým odvozeným echokardiografickým parametrem je **index hmotnosti levé komory srdeční (LVMI)**. Tento parametr vyjadřuje relativní hmotnost levé komory vzhledem k tělesné hmotnosti (viz rovnice 10).

$$LVMI = \frac{LVM}{BW}$$

Rovnice 10 – **Vztah pro určení indexu hmotnosti levé komory srdeční.**

**Tepový objem (SV)** patří k parametrům, který je nejčastěji určován pro potřeby výpočtu dalších parametrů. Hodnotu tepového objemu lze určit v principu dvěma přístupy. V prvním případě je hodnota SV určena jako rozdíl diastolického a systolického objemu levé komory (viz rovnice 11). Další možností je využít výsledků dopplerovských měření průtoků v aortě. V takovém případě je hodnota SV určena integrálem rychlosti toku krve aortou a jejím plošným průřezem (obvykle za předpokladu kruhového průřezu).

$$SV = LVV_d - LVD_s$$

Rovnice 11 – **Vztah pro určení tepového objemu.**

Celkový **srdeční výdej** (CO) je určen jako násobek tepového objemu a tepové frekvence (HR), vyjadřuje tedy minutový objem krve přečerpávané jednou srdeční komorou (viz rovnice 12).

$$CO = SV \cdot HR$$

Rovnice 12 – **Vztah pro určení tepového objemu**

Stejně jako v případě LVMI je i u srdečního výdeje možné určit tzv. **index srdečního výdeje** (CI). Hodnota CI je přitom určena jako poměr srdečního výdeje k tělesné hmotnosti (viz rovnice 13).

$$CI = \frac{CO}{BW}$$

Rovnice 13 – **Vztah pro určení indexu srdečního výdeje**

**Ejekční frakce** (EF) je obdobně jako FS používána k hodnocení systolické funkce srdce. V případě levé komory je tento parametr určován nejčastěji jako relativní rozdíl diastolického a systolického objemu komory vzhledem k jejímu diastolickému objemu (viz rovnice 14; Quinones et al. 1981). Obdobně lze EF určit i z plošného průřezu dutiny levé komory, v takovém případě kvůli rozlišení obou postupů hovoříme o plošné ejekční frakci (Reffelmann et al. 2003).

$$EF = \frac{LVV_d - LVV_s}{LVV_d}$$

Rovnice 14 – **Vztah pro určení ejekční frakce.**

Mezi odvozené parametry používané k hodnocení geometrie srdce patří **relativní tloušťka stěn levé komory** (RWT). Hodnota RWT je určena jako poměr součtu tloušťky přední a zadní stěny levé komory v diastole ku diastolickému rozměru dutiny levé komory (viz rovnice 15). Ve výpočtu parametry RWT lze také použít do určité míry zjednodušující předpoklad, že hodnoty PWT a AWT se významně neliší a místo součtu těchto hodnot je pak použit dvojnásobek jedné z nich.

$$RWT = \frac{AWT_d + PWT_d}{LVD_d}$$

Rovnice 15 – **Vztah pro určení relativní tloušťky stěny levé komory srdeční.**

K hodnocení kontraktility srdeční stěny je používán parametr **relativního ztlustění přední nebo zadní stěny levé komory srdeční** (AWTh, nebo PWTh). Hodnota tohoto parametru je určena jako relativní rozdíl systolické a diastolické tloušťky dané stěny normalizované její diastolickou tloušťkou (viz rovnice 16).

$$AWTh = \frac{AWT_s - AWT_d}{AWT_d} \text{ a } PWTh = \frac{PWT_s - PWT_d}{AWT_d}$$

Rovnice 16 – **Vztah pro výpočet zesílení přední a zadní stěny**

Obdobný význam jako AWTh či PWTh má parametr zkrácení středu srdeční stěny levé komory, tzv. **midwall shortening** (MS). Určení tohoto parametru vychází z předpokladu konstantního objemu srdeční stěny a existence pomyslné linie, které dělí srdeční stěnu na dvě stejně velké oblasti (vnitřní a vnější). Hodnota MS je pak určena jako relativní poměr rozdílu systolické a diastolické délky této střední linie normalizovaného její diastolickou délkou (Reffellmann et al. 2003).

Kontraktilitu srdeční stěny lze hodnotit také pomocí **indexu pohyblivosti srdečních stěn** (WMSI – wall motion scoring index), který je založen na hodnocení pohyblivosti jednotlivých segmentů srdeční stěny (obvykle 16 nebo 13 segmentů) dle stanovené stupnice (obvykle od 1 pro normální pohyblivost stěny do 5 pro aneurysma) (Morgan et al. 2004, Lang et al. 2006).

Z řady odvozených echokardiografických parametrů, vycházejících z dopplerovských měření, lze uvést tzv. index srdečního výkonu (MPI), označovaný také jako Tei index. Index MPI byl zaveden pro hodnocení diastolické i systolické funkce a byl mu přikládán velký význam jako souhrnnému ukazateli srdeční funkce. Byla však prokázána jeho závislost na zátěži srdce (Gillebert et al. 2004). Jeho hodnota je určena poměrem součtu isovolumické kontrakce a relaxace ku ejekční době (viz rovnice 17, Tei 1995)

$$MPI = \frac{IVCT + IVRT}{ET}$$

Rovnice 17 – **Vztah pro výpočet indexu srdečního výkonu.**

Z dopplerovských měření lze určit také parametr **E/A**, tento parametr se používá k hodnocení diastolické funkce levé komory srdeční. Hodnota parametru E/A je určena jako poměr maximální rychlosti proudění krve mitrální chlopní při pasivním a aktivním plnění levé komory (Litwin et al. 1994).

**Tabulka 4 – Obvyklé hodnoty echokardiografických parametrů frakční zkrácení (FS) a ejekční frakce (EF) u laboratorních potkanů. W = Wistar; SD = Sprague-Dawley**

Zdroj	Kmen	FS [%]	EF [%]	Hmotnost [g]
Holinski et al. 2011	Lewis	35	70	346
Liao et al. 2012	SD	43	82	275
Mostarda et al. 2012	W	40	77	251
Reffelman et al. 2003	W	49	69	420
Weytjens et al. 2006	W	40	78	503

### 2.3.3.3 Fyziologický význam změn echokardiografických parametrů

Echokardiografické parametry používané k hodnocení funkce u laboratorních zvířat jsou z velké části stejné, jako při hodnocení funkce srdce u lidí v klinické praxi, nebo na tyto klinické parametry přímo navazují. Vzhledem k tomu, že principiálně se funkce srdce u člověka a laboratorních zvířat příliš neliší (na makroskopické úrovni), a používané parametry vycházejí z podobných geometrických a funkčních souvislostí a předpokladů, je obdobná i interpretace těchto parametrů a jejich fyziologický význam. V řadě klinických prací jsou popsány souvislosti mezi změnami echokardiografických parametrů a různými kardiovaskulárními chorobami a s nimi spojenými rizikovými faktory. Konkrétní význam hlavních parametrů je popsán dále.

**Frakční zkrácení** patří mezi nejčastěji používané echokardiografické parametry pro hodnocení systolické funkce v experimentální kardiologii. V principu jde o ukazatel s obdobným významem jako parametr ejekční frakce EF (viz dále), který se běžně používá v klinice. FS obvykle dosahuje u potkanů hodnot v rozmezí 40-50%. S poklesem hodnoty frakčního zkrácení je spojena například hypertenze, infarkt myokardu či jiné faktory vedoucí k rozvoji srdečního selhání (Gao et al. 2000, Reffelmann et al. 2003). V případě infarktu myokardu je snížená schopnost systolické kontrakce komory přímým důsledkem poškození určité oblasti myokardu, při hypertenzi může být pokles FS způsoben potřebou překonat při vypuzení krve z komory větší odpor, respektive větší tlak, a případně s tím související dilatací komory. Významná korelace mezi systolickým tlakem v levé komoře nebo změnami systémového tlaku a hodnotou frakčního zkrácení byla zjištěna v práci Gao et al. (2000). Určitou nevýhodou parametru FS je jeho závislost na preloadu a afterloadu, jak dokazují Escudero et al. (2004) nebo Jegger et al. (2006).

Dalším parametrem, hodnotícím systolickou funkci, je **ejekční frakce** nebo plošná ejekční frakce. Hodnota EF je určována i v rámci jiných metodických přístupů - například v angiografii, odkud byla převzata pro účely echokardiografické diagnostiky. Hlavní rozdíl oproti parametru FS vyplývá z rovnic 6 a 14: zatímco frakční zkrácení vyjadřuje relativní rozdíl diastolického a systolického rozměru dutiny levé komory, ejekční frakce vyjadřuje relativní rozdíl diastolického a systolického objemu komory. Ejekční frakce tedy odráží reálnou frakci krve vypuzené z levé komory při systolické kontrakci. Nevýhodou při hodnocení funkce malých srdcí potkanů či myši je potřeba detailnějšího změření geometrie komory, které je často obtížné, nebo použití zjednodušujících geometrických předpokladů (viz rovnice 7 a 8 a související text), které však nemusí přesně odpovídat realitě. Další požadavkem při použití těchto geometrických aproximací je předpoklad rovnoměrné kontrakce komory, který rovněž nemusí být splněn, např. při lokálních změnách kontraktility při infarktu myokardu. Přes uvedené rozdíly je fyziologický význam parametrů FS a EF a zjištěných změn jejich hodnot ve většině situací obdobný.

Parametry srdeční geometrie jsou nejčastěji používány k rozlišení srdeční hypertrofie, dilatace komor nebo zjištění ischemického poškození myokardu.

Ze základních parametrů je nejvýznamnější **diastolický rozměr dutiny levé komory**. Zvětšení hodnoty  $LVD_d$  může být známkou dilatace komory; u laboratorních potkanů je přitom třeba uvažovat i obvyklé změny tohoto rozměru během stárnutí, respektive při zvětšení hmotnosti zvířete. Dilatace levé komory je přesto obvykle známkou zhoršení systolické funkce a spuštění mechanismů kompenzujících přetížení levé srdeční komory, které může rezultovat až srdečním selháním. Hlavní nevýhodou využití  $LVD_d$  k diagnostice funkce levé komory jsou však relativně pomalé změny. K významné změně tohoto parametru (měřeného echokardiograficky) v důsledku infarktu myokardu dochází po 14 až 20 dnech (Gao et al. 2000). Vysoká hodnota  $LVD_d$  může být také znakem srdeční hypertrofie.

Srdeční hypertrofii je možné hodnotit kombinací několika echokardiografických parametrů. Hodnota parametru **hmotnost levé komory** LVM, nebo **index hmotnosti levé komory** (LVMI) naznačuje, zda je tkáň levé komory hypertrofovaná, díky parametru **relativní tloušťka stěn** pak lze rozlišit, zda jde o hypertrofii koncentrickou, či excentrickou. V případě koncentrické hypertrofie (nejčastěji vyvolané tlakovým přetížením) je zvětšená relativní tloušťka stěn, zároveň komora nedilatuje (hodnota  $LVD_d$  není výrazněji zvýšená), ale roste hodnota LVM a LVMI. V případě excentrické hypertrofie (nejčastěji při objemovém přetížení) se naopak relativní tloušťka prakticky

nemění, je však dilatovaná levá komora a zároveň roste hodnota LVM a LVMI (Haas et al. 1995). Experimentálně byl pozorován i pokles hodnoty relativní tloušťky srdeční stěny, ten je však spojen s výraznými patologiemi, například při rozvoji srdečního selhání v důsledku překročení kompenzačních mechanismů levé komor (Litwin et al. 1994 a Reffelmann et al. 2003), nebo u laboratorních potkanů s rozvíjejícím se diabetem v důsledku farmakologického zásahu (Wichi et al. 2007).

Při určení objemu nebo hmotnosti levé komory je obvykle u všech výše uvedených modelů zjistitelná korelace s reálnými hodnotami. Stanovení přesné hodnoty, odpovídající realitě je však velmi obtížné. Velký vliv má přesnost aproximace použitého modelu vzhledem k reálnému tvaru komory, ale také množství měřených geometrických parametrů, které je potřeba určit. Zejména u malých laboratorních zvířat z toho důvodu mohou selhávat geometricky velmi přesné modely často používané v klinické praxi. Například výpočet podle kubické rovnice systematicky nadhodnocuje LVM a LVV a může být výrazně ovlivněn dilatací levé komory. Všechny aproximace navíc předpokládají symetrii levé komory a při infarktu myokardu proto vedou k horším výsledkům. Parametr LVM je zároveň často nahrazen parametrem LVMI, který kompenzuje hmotnostní rozdíly mezi jednotlivými zvířaty, a zároveň dobře koreluje s hodnotou systolického tlaku (Haas et al. 1995, Salemi et al. 2004).

Pomocí parametru **srdeční výdej** je možné hodnotit vaskulární rezistenci, nebo míru celkové fyzické zátěže, či výkonu zvířete. Již z definice vyplývá, že hodnota CO je výrazně ovlivněna tepovou frekvencí (Coatney 2001, Slama et al. 2002). Srdeční výdej může být ovlivněn také preloadem (Litwin et al. 1994).

K hodnocení systolické funkce myokardu je možné použít i parametry WMSI nebo MS. Hodnota WMSI je založena na subjektivním hodnocení pohyblivosti srdeční stěny, která se může výrazně lišit především v případě infarktu myokardu, a velmi dobře zohledňuje rozdíly mezi jednotlivými segmenty srdeční stěny (Morgan et al. 2004). Naproti tomu MS je parametr určitelný s velkou objektivní přesností, k jeho stanovení je ale, stejně jako v případě přesných aproximací tvaru komory, potřebné určit řadu základních echokardiografických parametrů.

K hodnocení relaxace levé komory je možné použít parametr E, nebo poměr E/A. **Rychlost průtoku krve mitrální chlopní při pasivním plnění** levé komory dobře reflektuje tlak v levé komoře a síni. Hodnota E, stejně jako zrychlení, roste se zvyšujícím se tlakem v levé síni. Snížení hodnoty E vzhledem k **rychlosti průtoku při pasivním plnění** může být způsobeno vyšší tuhostí levé komory, která obvykle souvisí s poškozením

myokardu. Nižší hodnota E může také souviset se zhoršenou systolickou funkcí a vést k celkovému menšímu průtoku mitrální chlopni (Zhang et al. 2007). **Parametr E/A** je ukazatelem diastolické funkce. Tento poměr je však ovlivněn tepovou frekvencí, preloadem, afterloadem, kontraktilitou i tuhostí levé komory (Slama et al. 2004). Výrazný nárůst hodnoty E/A může být způsoben vysokým atriálním tlakem, způsobeným změnou relaxace levé komory v důsledku infarktu myokardu (Moisé et al. 2002). Při nárůstu atriálního tlaku a současně zvýšené diastolické tuhosti je hodnota E/A tzn. pseudonormální (výrazně se mění hodnoty E a A, ale jejich poměr zůstává v normě). K tomu dochází při koarktaci aorty, kdy je snížena rychlost pohybu mitrální chlopně. Snížená hodnota E/A byla pozorována u starších zvířat (Wichi et al. 2007) a u potkanů s diabetem (Salemi et al. 2004).

Diastolickou funkci levé komory lze hodnotit i pomocí **času isovolumické relaxace**. IVRT je relativně snadno měřitelný a jeho progresivní změny byly zjištěny u hypertenzních potkanů a při diastolické dysfunkci (Karatzis et al. 2009 a Slama et al. 2004). Výrazný vliv na hodnotu IVRT má ale tepová frekvence. Na frekvenci není závislý parametr "**myocardial performance index**" (Tei index), který dobře koreluje s indexem isovolumické relaxace, kontraktilitou LV a rychlostí tlakových změn (Jegger et al. 2006, Salemi et al. 2004, Zhang et al. 2007). Tei index je ale ovlivněn preloadem (Özdemir et al. 2007).

#### 2.3.4 Vliv anestezie na echokardiografická měření

Echokardiografické vyšetření laboratorních potkanů a myši se provádí v poloze zvířete na zádech, což by mohlo být pro zvíře stresovou situací, ovlivňující výsledek měření. Proto je obvyklé, provádět vyšetření při celkové anestezii. V některých studiích sice bylo echokardiografické vyšetření myši provedeno v bdělém stavu a publikované výsledky naznačily, že během měření se výrazně nezměnila tepová a dechová frekvence, ani hodnota frakčního zkrácení (Schoensiege et al. 2011), avšak v případě potkanů je takový přístup výrazně komplikovanější a spíše ojedinělý (Doursout et al. 2001). I u myši je však většina vyšetření prováděna v anestezii.

V laboratorní praxi se nejčastěji používají anestetika aplikovaná inhalačně či intraperitoneálně. Mezi inhalačně aplikovaná anestetika používaná při echokardiografických vyšetřeních patří například isofluran, sevofluran, či halothal,



v případě intraperitoneálních anestetik pak pentobarbital sodný, kombinace ketamin-xylazin, nebo tiletamin-zolazepam. Některá anestetika mohou do určité míry ovlivnit srdeční funkci, v závislosti na aplikované dávce a druhu anestetika a tím negativně ovlivnit měření.

V literatuře lze nalézt informace o změnách měřených parametrů při aplikaci intraperitoneálních anestetik, které však nejsou zcela konzistentní. Například v práci Steina et al. (2007) byl u potkanů po aplikaci pentobarbitalu sodného pozorován vliv na zvýšení hodnot parametrů, spojených se systolickou funkcí, Saha et al. (2007) uvádí pokles srdečního výdeje, normalizovaného na plochu tělesného povrchu, a v práci Smitha a Hutchinse (1980) byl zaznamenán pokles tepové frekvence a maximální rychlosti průtoku krve aortou. U zvířat anestetizovaných pomocí ketaminu-xylazinu byl pozorován významný pokles srdeční frekvence a srdečního výdeje (Plante et al. 2006) a pokles hodnoty frakčního zkrácení u myši (Chaves et al. 2001), zatímco v práci Harta et al. (2001) je uváděn jeho nárůst. V některých studiích byla použita anestezie ketamin-xylazin ve vyšší dávce pro záměrné snížení tepové frekvence a snazší rozlišení vln E a A při měření průtoku na mitrální chlopni (při tepové frekvenci nad 300 Hz jsou vlny obtížněji rozlišitelné a často splývají), což ale může celkově ovlivnit hemodynamiku a ostatní echokardiografické parametry a tento postup je proto problematický. Při použití intraperitoneálních anestetik může být obtížnější dosáhnout potřebné standardnosti aplikace anestetika a navíc lze pozorovat i jistou proměnnost hloubky anestezie s časem, což také může ovlivnit výsledky. Dosažení standardní anestezie je jednodušší v případě inhalačních anestetik, u kterých lze přesně regulovat koncentraci anestetika a dobu anestezie.

V případě halothanu v současné době neexistují práce, které by se zabývaly přímo jeho vlivem na echokardiografická měření. U sevofluranu byl zjištěn pokles tepové frekvence, systolické funkce levé komory srdeční a mírná dilatace levé komory srdeční u myši i při nižších koncentracích sevofluranu (Gentry-Smetana et al. 2008).

Isofluran je v současné době pravděpodobně nejrozšířenější anestetikum používané při echokardiografických vyšetřeních malých laboratorních zvířat. V běžně používaných koncentracích (1,5% až 3%) má isofluran minimální vliv na parametry srdeční funkce. Při inhalaci směsi isofluranu v koncentracích do 2,5%, tedy v dávce používané při echokardiografických vyšetřeních, nebyl pozorován žádný vliv na srdeční funkci v průběhu vyšetření (Říha et al. 2012). Pouze při vysokých koncentracích byl pozorován u myši pokles hodnot parametrů frakčního zkrácení (4% směs isofluranu), ejekční frakce

(3% směs isofluranu) a dilatace levé komory srdeční (4% směs isofluranu) (Gentry-Smetana et al. 2008). Téměř totožný vliv má isofluran i na srdeční funkci potkanů (Říha et al. 2012). Isofluran lze proto považovat za vhodné anestetikum pro většinu echokardiografických měření. V experimentech, zaměřených na studium kardioprotektivních mechanismů, je ovšem nutno pamatovat na možné ovlivnění kardioprotekce tímto anestetikem (Kersten et al. 1997; Cason et al. 1997).

### **2.3.5 Cíle diplomové práce**

Z literárních dat (viz 2.2.1 až 2.2.3) vyplývá, že adaptace na hypoxii nebo zvýšenou fyzickou zátěž může být v principu spojena vedle pozitivních kardioprotektivních efektů i s nežádoucími vedlejšími vlivy a negativními změnami funkce a geometrie srdce. Konkrétní používané protokoly adaptace se přitom v jednotlivých studiích značně liší a výsledky proto nelze v tomto smyslu zobecnit. Při výzkumu kardioprotektivních mechanismů je proto nezbytné experimentálně ověřit případné negativní vedlejší vlivy u konkrétních použitých protokolů. Opakovaná echokardiografická vyšetření stejných jedinců umožňují zjistit průběh případných změn srdeční funkce a geometrie v závislosti na postupně se zvyšující a déle trvající zátěži, a proto jsou k tomuto ověření vhodným nástrojem.

Hlavním cílem diplomové práce je pomocí echokardiografického měření a jeho analýzy zjistit, zda systolická funkce a geometrie levé srdeční komory potkana není nepříznivě ovlivněna jako vedlejší důsledek adaptace na zvolené kardioprotektivní režimy

- 1) chronické hypoxie (intermitentní hypobarická hypoxie různého stupně) a
- 2) zvýšené fyzické zátěže (nucené běhání na pohyblivém pásu).

### **3 Materiál a metody**

#### **3.1 Echokardiografické vyšetření laboratorního potkana**

Echokardiografická vyšetření laboratorních potkanů byla prováděna na anestetizovaných zvířatech. V průběhu vyšetření byla zvířata v supinální poloze a byla u nich průběžně sledována tepová frekvence a tělesná teplota.

##### **3.1.1 Anestezie**

Během echokardiografických vyšetření a bezprostředně před nimi byla všechna zvířata anestetizována. Jako anestetikum byl použit 1-chlór-2,2,2-trifluoroetyldifluorometyléter (isofluran; Aesica Queenborough Limited). Roztok isofluranu byl odpařován v kvantitativním isofluranovém odpařovači (A.E.Services) a výsledná směs se vzduchem byla aplikována inhalačně při spontánní ventilaci pomocí externí inhalační trubice. Při prvotním usnutí byla aplikována 2,5 % směs isofluranu v malém uzavřeném prostoru při průtoku  $2,5 \text{ l.min}^{-1}$ , během samotného vyšetření byla pomocí externí inhalační trubice aplikována 2,0 % směs isofluranu při průtoku  $2 \text{ l.min}^{-1}$ . Celková délka anestezie jednoho zvířete (tj. doba potřebná k přípravě vyšetření a jeho průběhu) se pohybovala mezi 14 až 18 minutami.

##### **3.1.2 Tělesná teplota a tepová frekvence**

Během echokardiografických vyšetření byla zvířata fixována v supinální poloze na vyhřívané podložce (Visualsonics THM 150) a byla jim odstraněna srst v oblasti levé a střední části toraxu. Teplota podložky byla nastavena na  $38^{\circ}\text{C}$ . V průběhu vyšetření byla kontinuálně měřena tělesná teplota rektálním odporovým teploměrem (termistorem). Pomocí EKG senzorů umístěných na podložce v oblasti fixace všech končetin potkana byla kontinuálně měřena také tepová frekvence.

### 3.1.3 Vlastní echokardiografické vyšetření

Echokardiografická vyšetření byla prováděna na přístroji Vingmed-System Five, General Electrics, se sektorovou sondou (frekvence 10 MHz) a na přístroji Vingmed Vivid 7 Dimension, General Electrics, s maticovou sondou M12L (frekvence 14 MHz). Délka vlastního vyšetření se pohybovala v rozmezí 10 až 12 minut.

V rámci vyšetření byly v následujícím pořadí pořizovány tyto echokardiografické záznamy:

- a) kontinuální záznam srdečních stahů ve 2D-módu příčného řezu levou srdeční komorou na úrovni papilárních svalů (dále jen 2D-mód v krátké ose)
- b) záznam průběhu srdečních stahů v M-módu u příčného řezu levou srdeční komorou na úrovni papilárních svalů a v ose středu dutiny levé komory (dále jen M-mód v krátké ose)
- c) kontinuální záznam srdečních stahů ve 2D-módu u podélného řezu levou komorou na úrovni aortálního ústí (dále jen 2D-mód v dlouhé ose)
- d) záznam průběhu srdečních stahů v M-módu u podélného řezu levou komorou na úrovni aortálního ústí a v ose papilárních svalů (dále jen M-mód v dlouhé ose)

Všechny záznamy byly ukládány pro pozdější vyhodnocení.

### 3.1.4 Vyhodnocení echokardiografických vyšetření

Záznamy echokardiografických vyšetření byly vyhodnocovány s časovým odstupem od vyšetření. Vyhodnocování probíhalo v případě měření na přístroji Vingmed-System Five pomocí diagnostického softwaru přímo na tomto přístroji. V případě měření na přístroji Vingmed Vivid 7 Dimension byly záznamy vyšetření vyhodnocovány v programu Echo PAC PC verze 7.1.2 (GE Medical Systems CZ Ltd., Praha).

#### 3.1.4.1 Hodnocení základních echokardiografických parametrů

Ze záznamů echokardiografických vyšetření byly u všech experimentálních skupin odečítány hodnoty základních echokardiografických parametrů. Pro potřeby

echokardiografických měření byly za konec diastoly považovány fáze srdečního cyklu s maximálním rozměrem dutiny levé komory, za konec systoly byly považovány fáze srdečního cyklu s minimálním vnitřním rozměrem levé komory.

Z 2D-módu v krátké ose byly odečítány hodnoty tloušťky přední stěny levé komory srdeční v diastole a systole, tloušťky zadní stěny levé komory srdeční v diastole a systole a ve dvou na sebe kolmých směrech také vnitřní rozměr levé komory srdce v diastole a systole.

Z M-módu v krátké ose byly podle metody leading edge odečítány hodnoty tloušťky přední stěny levé komory srdeční v diastole a systole, tloušťky zadní stěny levé komory srdeční v diastole a systole a rozměr dutiny levé komory srdce v diastole a systole.

Z 2D-módu v dlouhé ose byly odečítány hodnoty tloušťky přední stěny levé komory srdeční v diastole a systole, tloušťky zadní stěny levé komory srdeční v diastole a systole a také vnitřní rozměr levé komory srdce v diastole a systole.

Z M-módu v dlouhé ose byly podle metody leading edge odečítány hodnoty tloušťky přední stěny levé komory srdeční v diastole a systole, tloušťky zadní stěny levé komory srdeční v diastole a systole a vnitřní rozměr levé komory srdce v diastole a systole.

#### **3.1.4.2 Hodnocení odvozených echokardiografických parametrů**

Byly hodnoceny odvozené echokardiografické parametry frakční zkrácení, ejekční frakce, relativní tloušťka stěn levé komory srdce v diastole, hmotnost levé komory a index hmotnosti levé komory, tepový objem, srdeční výdej, index srdečního výdeje.

### **3.2 Experimentální modely**

Byly použity dva modely adaptace na zvýšenou zátěž spojené s kardioprotektivním efektem. Konkrétně šlo o protokol progresivní intermitentní hypobarické hypoxie a protokol zvýšené fyzické zátěže formou nuceného běhání.

### 3.2.1 Model intermitentní hypobarické hypoxie

#### 3.2.1.1 Experimentální skupiny

Pro model intermitentní hypobarické hypoxie jsme použili potkany kmene Wistar z chovů firmy Anlab, rozdělené do dvou experimentálních skupin:

- a) skupina adaptovaná na protokol intermitentní hypobarické hypoxie (HH) – 20 zvířat
- b) věková kontrolní skupina (HC) – 10 zvířat; normobarická normoxie, stejný věk jako skupina HH

Pro potřeby srovnání výsledků u adaptovaných a kontrolních zvířat o stejné hmotnosti bylo vybráno vhodné měření u skupiny HC.

#### 3.2.1.2 Protokol intermitentní hypobarické hypoxie a echokardiografických vyšetření

Protokol progresivní intermitentní hypobarické hypoxie spočíval v adaptaci laboratorních potkanů na hypobarickou hypoxii po dobu 8 hodin denně, 7 dní v týdnu. Každé 3 týdny byly progresivně měněny podmínky hypobarické hypoxie tak, aby odpovídaly hodnotám atmosférického tlaku a složení vzduchu ve 4 000 až 8 000 metrech nadmořské výšky (postupné kroky s rozestupem 1 000 výškových metrů). Vždy po 3 týdnech adaptace byla v období před změnou podmínek hypobarické hypoxie provedena echokardiografická vyšetření. Hodnoty atmosférického tlaku a parciálního tlaku kyslíku v průběhu protokolu jsou uvedeny v tabulce 5.

**Tabulka 5 – Hodnoty atmosférického tlaku, parciálního tlaku kyslíku a odpovídající nadmořské výšky během protokolu adaptace na intermitentní hypobarickou hypoxii.**

Atmosférický tlak (p), parciální tlak kyslíku ( $pO_2$ ), odpovídající nadmořská výška (h).

Týden	p [torr]	$pO_2$ [torr]	h [m n.m.]
0	733	153	300
1-3	462	97	4000
4-6	405	85	5000
7-9	353	74	6000
10-12	308	65	7000
13-15	267	56	8000

### **3.2.2 Model nuceného běhání**

#### **3.2.2.1 Experimentální skupiny**

Pro model zvýšené fyzické zátěže jsme použili potkany kmene Wistar z chovů Charles River Laboratories, rozdělených do dvou experimentálních skupin

a) skupina adaptovaná na protokol zvýšené fyzické zátěže (BB) – 12 zvířat

b) věková kontrolní skupina (BC); stejný věk jako skupina BB – 8 zvířat

Pro potřeby srovnání výsledků u adaptovaných a kontrolních zvířat o stejné hmotnosti bylo vybráno vhodné měření u skupiny BC.

#### **3.2.2.2 Protokol nuceného běhání a echokardiografických vyšetření**

Zvířata byla adaptována na zvýšenou fyzickou zátěž formou nuceného běhání. Nucené běhání probíhalo na běhacím pásu Exer-3/6 Treadmill, Columbus Instruments (dále jen treadmill). Adaptace probíhala po dobu 4 týdnů, 5 dnů v týdnu, 1 hodinu denně. Detailní popis protokolu je uveden v tabulce 6. Echokardiografická vyšetření byla provedena před zahájením protokolu, po 2 týdnech adaptace a po 4 týdnech adaptace. Rychlost pásu byla nastavována manuálně. Intenzita a frekvence elektrických výbojů, stimulujících potkany k neustálému běhu, byla nastavena na 2 Hz a 1,22 mA při napětí 92 V. Nucené běhání probíhalo při standardních podmínkách, normálním atmosférickém tlaku, normoxii a při teplotě 20°C, v období individuální noci zvířat (mezi 18. a 21. hodinou) a při minimálním osvětlení.

Tabulka 6 – **Protokol nuceného běhání.** Rozvržení nastavení rychlosti běhu v desetiminutových intervalech, včetně průměrné rychlosti, pro 4 týdenní protokol adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž formou nuceného běhání.

Čas [min]	1-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	Průměrná rychlost [m.min <sup>-1</sup> ]
Den	Rychlost [m.min <sup>-1</sup> ]						
1	12,5	15	15	15	15	15	14,6
2	12,5	15	15	20	20	20	17,1
3	12,5	15	20	20	25	25	19,6
4	12,5	15	20	20	25	25	19,6
5	17	20	25	25	30	30	24,5
6	0	0	0	0	0	0	0,0
7	0	0	0	0	0	0	0,0
8	17	20	25	25	30	30	24,5
9	21,5	25	25	30	30	30	26,9
10	21,5	25	30	30	30	25	26,9
11	21,5	30	30	30	30	30	28,6
12	24	30	30	30	30	30	29,0
13	0	0	0	0	0	0	0,0
14	0	0	0	0	0	0	0,0
15	24	30	30	30	30	30	29,0
16	24	30	30	30	30	30	29,0
17	24	30	30	30	30	30	29,0
18	24	30	30	30	30	30	29,0
19	24	30	30	30	30	30	29,0
20	0	0	0	0	0	0	0,0
21	0	0	0	0	0	0	0,0
22	24	30	30	30	30	30	29,0
23	24	30	30	30	30	30	29,0
24	24	30	30	30	30	30	29,0
25	24	30	30	30	30	30	29,0
26	24	30	30	30	30	30	29,0
27	0	0	0	0	0	0	0,0
28	0	0	0	0	0	0	0,0
29	24	30	30	30	30	30	29,0

### 3.3 Statistické a grafické zpracování dat

Výsledky měření jsou uváděny jako průměrná hodnota  $\pm$  střední chyba průměru (SEM). Statistické rozdíly mezi experimentálními skupinami byly určeny pomocí testu one-way repeated ANOVA s následným Bonferroniho testem, hladina signifikance byla stanovena na úrovni  $P < 0,05$ . Data byla zpracována pomocí programů Microsoft Office Excel 2003 a Graph Pad Prism 5.03. Grafy byly tvořené pomocí programu Graph Pad Prism 5.03.



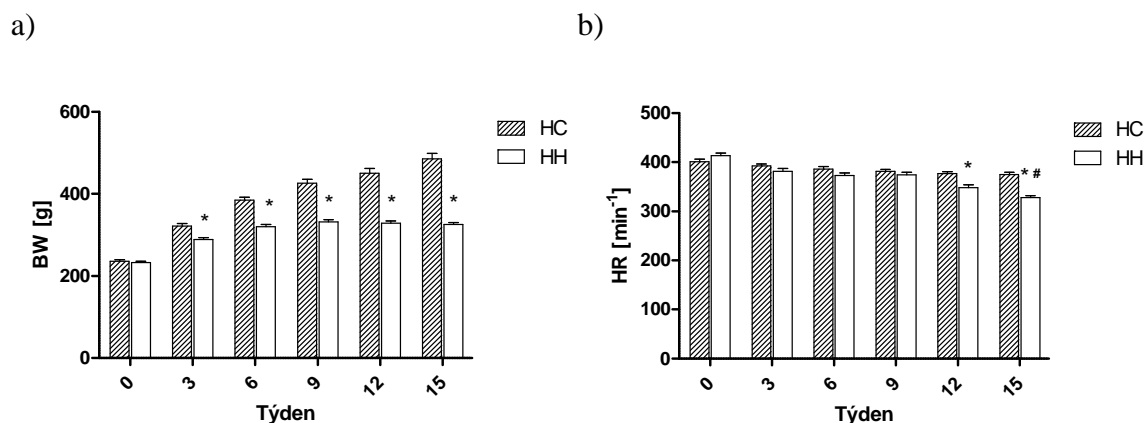
## **4 Výsledky**

### **4.1 Adaptace na hypobarickou hypoxii**

V průběhu adaptace na postupně se zvyšující intermitentní hypobarickou hypoxii bylo provedeno 6 skupin měření kontrolních potkanů a potkanů vystavených hypoxii. V kontrolní skupině bylo při všech měřeních použito 10 potkanů, v experimentální skupině bylo v prvních pěti měřeních 20 potkanů a v posledním měření 16. Během adaptace na nejvyšší stupeň hypoxie, odpovídajícím výšce 8 000 m n.m. (mezi 12. a 15. týdnem adaptace) došlo k úhynu 4 potkanů; výsledky předchozích měření u těchto jedinců byly do výsledků zahrnuty.

Průběh změn hmotnosti kontrolních a experimentálních zvířat během celého experimentu je zobrazen v grafu 1a. Hodnoty BW jsou: HC<sub>0</sub> 236±4 g; HC<sub>3</sub> 322±7 g; HC<sub>6</sub> 385±7 g; HC<sub>9</sub> 426±10 g; HC<sub>12</sub> 450±12 g; HC<sub>15</sub> 485±113 g; HH<sub>0</sub> 233±3 g; HH<sub>3</sub> 289±4 g; HH<sub>6</sub> 320±5 g; HH<sub>9</sub> 332±6 g; HH<sub>12</sub> 329±5 g; HH<sub>15</sub> 325±5 g. Signifikantní rozdíl hmotnosti potkanů, adaptovaných na hypoxii, ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn od 3. týdne až do konce experimentu. Hmotnost kontrolních potkanů rostla v průběhu celého experimentu. U skupiny vystavené hypoxii byl růst hmotnosti pomalejší a od 9. týdne byla hodnota BW stabilní.

Hodnoty tepové frekvence ukazuje graf 1b. Hodnoty HR jsou: HC<sub>0</sub> 402±5 min<sup>-1</sup>; HC<sub>3</sub> 393±5 min<sup>-1</sup>; HC<sub>6</sub> 387±5 min<sup>-1</sup>; HC<sub>9</sub> 382±4 min<sup>-1</sup>; HC<sub>12</sub> 377±4 min<sup>-1</sup>; HC<sub>15</sub> 375±5 min<sup>-1</sup>; HH<sub>0</sub> 413±5 min<sup>-1</sup>; HH<sub>3</sub> 382±6 min<sup>-1</sup>; HH<sub>6</sub> 373±5 min<sup>-1</sup>; HH<sub>9</sub> 374±5 min<sup>-1</sup>; HH<sub>12</sub> 349±5 min<sup>-1</sup>; HH<sub>15</sub> 328±4 min<sup>-1</sup>. Hodnoty HR vykazovaly v průběhu experimentu mírný pokles u obou skupin zvířat; ve skupině adaptovaných potkanů byl pokles výraznější. Signifikantní rozdíl hodnot HR měřených u potkanů adaptovaných na hypoxii ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn během 12. a 15. týdne. Při srovnání koncové hodnoty HR u potkanů adaptovaných na hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl.



Graf 1 – Vývoj a) hmotnosti (BW) a b) tepové frekvence (HR) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)

\*  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

Hodnoty základních echokardiografických parametrů geometrie levé komory srdeční u zvířat adaptovaných a kontrolních jsou uvedeny v tabulce 7.

Signifikantní rozdíl hodnot  $AWT_d$  měřených u hypoxických potkanů ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn na začátku experimentu, 3, 12 a 15 týdnů po jeho zahájení. Při srovnání koncové hodnoty  $AWT_d$  u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. U obou experimentálních skupin byly hodnoty parametru  $AWT_d$  relativně stabilní, velmi výrazný nárůst hodnoty  $AWT_d$  byl zjištěn během posledních 3 týdnů experimentu u skupiny HH.

Při srovnání hodnot parametru  $LVD_d$  u potkanů adaptovaných na hypoxii se stejně starými kontrolami byly zjištěny signifikantní rozdíly v průběhu celého experimentu. Při srovnání koncové hodnoty  $LVD_d$  u hypoxických potkanů s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru  $LVD_d$  vykazovaly u kontrolní skupiny v průběhu celého experimentu výrazný růst. U skupiny HH měly zjištěné hodnoty mírně stoupající tendenci. Výsledky měření parametru  $LVD_d$  jsou zobrazeny také v grafu 2 A).

Signifikantní rozdíl hodnot  $PWT_d$  měřených u potkanů adaptovaných na hypoxii ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn na konci experimentu (15. týden). Při srovnání koncové hodnoty  $PWT_d$  u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru

PWT<sub>d</sub> byly u obou skupin v průběhu celého experimentu relativně stabilní, pouze u skupiny HH došlo k jejich výraznému růstu mezi 12. a 15. týdnem experimentu.

Signifikantní rozdíl hodnot AWT<sub>s</sub> měřených u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn 3, 6 a 15 týdnů od zahájení experimentu. Při srovnání koncové hodnoty AWT<sub>s</sub> u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru AWT<sub>s</sub> u skupiny HH vykazovaly během experimentu mírný růst s výrazným růstem na konci experimentu, u skupiny HC hodnoty AWT<sub>s</sub> rostly v první polovině experimentu, ve druhé polovině pak mírně klesaly.

Signifikantní rozdíl hodnot LVD<sub>s</sub> měřených u adaptovaných potkanů ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn v průběhu celého experimentu. Při srovnání koncové hodnoty LVD<sub>s</sub> u hypoxických potkanů s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru LVD<sub>s</sub> vykazovaly u kontrolní skupiny růst v průběhu celého experimentu. U skupiny HH byly hodnoty parametru LVD<sub>s</sub> v průběhu experimentu relativně stabilní. Výsledky měření parametru LVD<sub>s</sub> jsou zobrazeny také v grafu 2 B)

Signifikantní rozdíl hodnot parametru PWT<sub>s</sub> měřených u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii ve srovnání se stejně starými kontrolami byl zjištěn 3 a 6 týdnů od zahájení experimentu. Při srovnání koncové hodnoty PWT<sub>s</sub> u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru PWT<sub>s</sub> vykazovaly v průběhu experimentu mírný růst u obou experimentálních skupin.

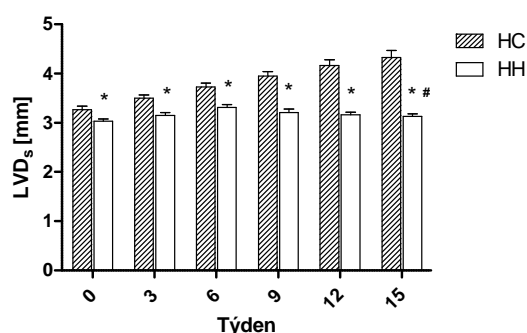
Tabulka 7 - **Hodnoty základních echokardiografických parametrů geometrie levé srdeční komory u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrolních potkanů (HC)**

\*  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

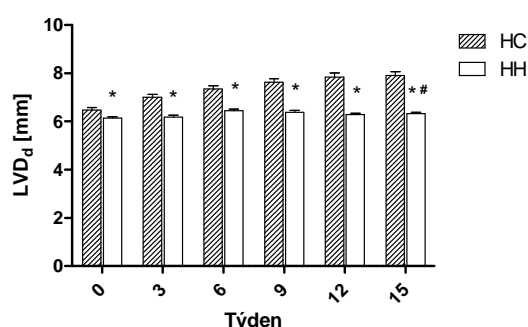
#  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání koncové hodnoty u adaptovaných zvířat s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti

Skupina	Týden	AWT <sub>d</sub> [mm]	LVD <sub>d</sub> [mm]	PWT <sub>d</sub> [mm]	AWT <sub>s</sub> [mm]	LVD <sub>s</sub> [mm]	PWT <sub>s</sub> [mm]
HC	0	1,63±0,02	6,47±0,02	1,64±0,02	2,64±0,03	3,27±0,07	2,91±0,05
	3	1,66±0,01	7,00±0,12	1,67±0,02	2,83±0,04	3,50±0,07	3,11±0,06
	6	1,69±0,01	7,35±0,14	1,71±0,03	2,92±0,03	3,73±0,08	3,16±0,06
	9	1,69±0,01	7,63±0,15	1,73±0,03	2,91±0,03	3,95±0,09	3,13±0,06
	12	1,64±0,02	7,84±0,17	1,70±0,03	2,78±0,03	4,17±0,11	3,11±0,07
	15	1,64±0,02	7,90±0,16	1,75±0,03	2,65±0,05	4,33±0,14	3,07±0,06
HH	0	1,73±0,02*	6,14±0,06*	1,71±0,04	2,67±0,03	3,03±0,05*	2,77±0,05
	3	1,74±0,02*	6,19±0,07*	1,76±0,03	2,67±0,02*	3,15±0,06*	2,77±0,04*
	6	1,73±0,02	6,45±0,06*	1,68±0,03	2,71±0,04*	3,31±0,06*	2,82±0,04*
	9	1,69±0,02	6,39±0,07*	1,73±0,03	2,80±0,04	3,21±0,07*	2,99±0,06
	12	1,75±0,03*	6,29±0,06*	1,79±0,05	2,78±0,05	3,16±0,06*	3,06±0,05
	15	1,97±0,03*#	6,33±0,05*#	1,98±0,03*#	3,16±0,07*#	3,13±0,05*#	3,30±0,08

a)



b)



Graf 2 – **Rozměr dutiny levé komory srdeční a) v diastole (LVD<sub>d</sub>) a b) v systole (LVD<sub>s</sub>) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)**

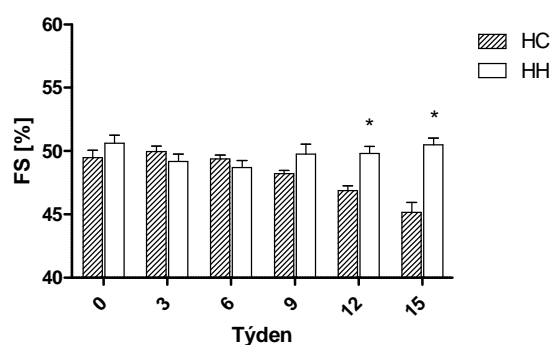
\*  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

#  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání koncové hodnoty u adaptovaných zvířat s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti

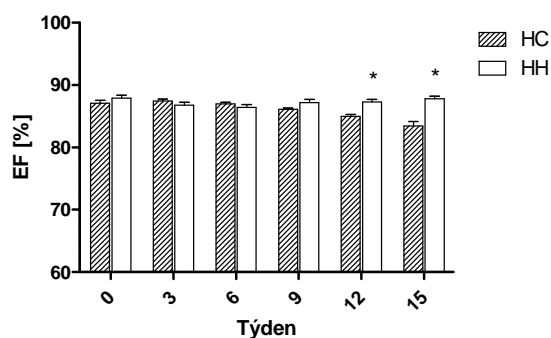
Vývoj hlavního funkčního ukazatele, parametru frakční zkrácení, je zobrazen v grafu 3 a). Hodnoty parametru FS jsou: HC<sub>0</sub> 49,48±0,58 %; HC<sub>3</sub> 49,98±0,41 %; HC<sub>6</sub> 49,38±0,31 %; HC<sub>9</sub> 48,22±0,25 %; HC<sub>12</sub> 46,87±0,39 %; HC<sub>15</sub> 45,18±0,77 %; HH<sub>0</sub> 50,63±0,61 %; HH<sub>3</sub> 49,19±0,58 %; HH<sub>6</sub> 48,71±0,55 %; HH<sub>9</sub> 49,76±0,80 %; HH<sub>12</sub> 49,81±0,55 %; HH<sub>15</sub> 50,51±0,52 %. U parametru FS byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u hypoxických zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty 12 a 15 týdnů od začátku experimentu. Při srovnání koncové hodnoty FS u potkanů adaptovaných na hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru FS byly u skupiny HH v průběhu experimentu stabilní, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty FS stabilní tendenci v první polovině a mírný pokles v druhé polovině experimentu.

Hodnot parametru ejekční frakce (objemové) jsou vyneseny v grafu 3 b). Hodnoty parametru EF jsou: HC<sub>0</sub> 87,07±0,46 %; HC<sub>3</sub> 87,44±0,32 %; HC<sub>6</sub> 86,99±0,24 %; HC<sub>9</sub> 86,10±0,20 %; HC<sub>12</sub> 84,96±0,34 %; HC<sub>15</sub> 83,45±0,70 %; HH<sub>0</sub> 87,87±0,49 %; HH<sub>3</sub> 86,79±0,46 %; HH<sub>6</sub> 86,43±0,43 %; HH<sub>9</sub> 87,10±0,55 %; HH<sub>12</sub> 87,27±0,42 %; HH<sub>15</sub> 87,82±0,38 %. U parametru EF byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u hypoxických zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty 12 a 15 týdnů od začátku experimentu. Při srovnání koncové hodnoty EF u adaptovaných potkanů s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru EF byly u skupiny HH v průběhu experimentu stabilní, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty EF mírný pokles v průběhu celého experimentu.

a)



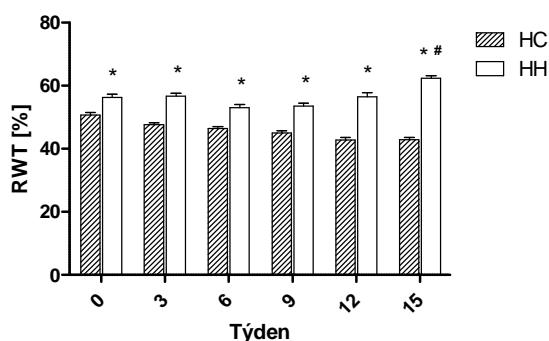
b)



Graf 3 – Parametry systolické funkce a) frakční zkrácení (FS) a b) ejekční frakce (EF) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)

\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

Vývoj hodnot parametru relativní tloušťky srdeční stěny levé komory je zobrazen v grafu 4. Hodnoty parametru RWT jsou: HC<sub>0</sub> 50,7±0,8 %; HC<sub>3</sub> 47,7±0,6 %; HC<sub>6</sub> 46,4±0,7 %; HC<sub>9</sub> 45,0±0,7 %; HC<sub>12</sub> 42,8±0,8 %; HC<sub>15</sub> 42,9±0,7 %; HH<sub>0</sub> 56,3±1,0 %; HH<sub>3</sub> 56,7±0,9 %; HH<sub>6</sub> 53,0±1,0 %; HH<sub>9</sub> 53,6±0,9 %; HH<sub>12</sub> 56,5±1,3 %; HH<sub>15</sub> 62,4±0,8 %. U parametru RWT byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u hypoxických zvířat se stejně starými kontrolami v průběhu celého experimentu. Při srovnání koncové hodnoty RWT u adaptovaných potkanů s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru RWT byly u skupiny HH v průběhu experimentu stabilní s mírným růstem na jeho konci, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty RWT klesající tendenci v průběhu celého experimentu.



Graf 4 – Relativní tloušťky srdeční stěny levé komory srdeční (RWT) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)

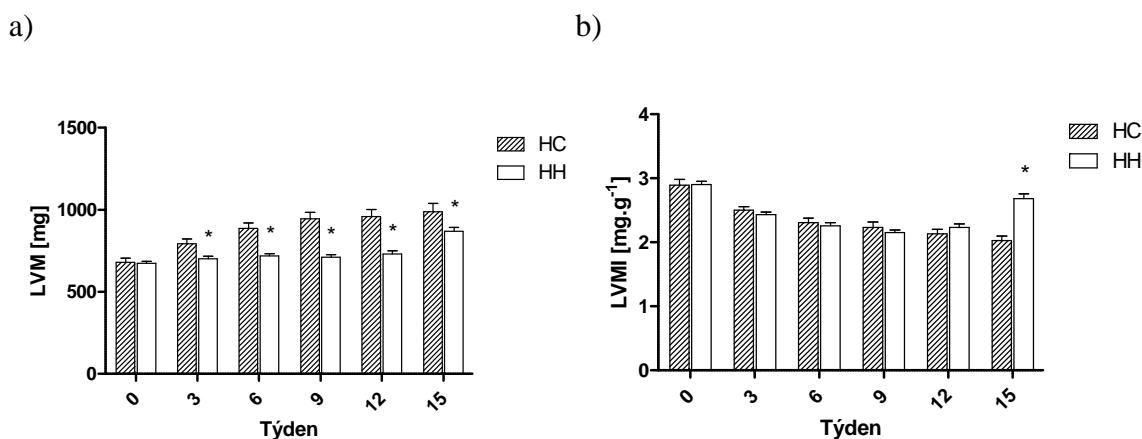
\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

# P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání koncové hodnoty u adaptovaných zvířat s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti

Hodnoty parametru hmotnost levé komory srdeční jsou uvedeny v grafu 5 a). Hodnoty parametru LVM jsou: HC<sub>0</sub> 680,9±23,4 mg; HC<sub>3</sub> 793,3±28,5 mg; HC<sub>6</sub> 886,6±34,6 mg; HC<sub>9</sub> 944,1±40,0 mg; HC<sub>12</sub> 957,6±43,8 mg; HC<sub>15</sub> 988,6±49,4 mg; HH<sub>0</sub> 674,6±11,6 mg; HH<sub>3</sub> 701,8±14,7 mg; HH<sub>6</sub> 719,1±13,5 mg; HH<sub>9</sub> 711,2±15,3 mg; HH<sub>12</sub> 730,7±19,8 mg; HH<sub>15</sub> 869,3±23,7 mg. U parametru LVM byly při srovnání hodnot u zvířat adaptovaných na hypoxii se stejně starými kontrolními zvířaty zjištěny signifikantní rozdíly od 3. týdne experimentu, při srovnání posledního měření u adaptovaných potkanů s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti nebyly zjištěny signifikantní rozdíly. Hodnoty parametru LVM u hypoxických potkanů byly do 12. týdne experimentu relativně stabilní a během posledních

3 týdnů došlo k jejich výraznému růstu. U kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty LVM růst v průběhu celého experimentu.

Index hmotnosti levé komory srdce (normalizovaná hodnota parametru LVM) je pro obě experimentální skupiny zobrazen v grafu 5 b). Hodnoty parametru LVMI jsou: HC<sub>0</sub> 2,89±0,09 mg.g<sup>-1</sup>; HC<sub>3</sub> 2,50±0,06 mg.g<sup>-1</sup>; HC<sub>6</sub> 2,31±0,07 mg.g<sup>-1</sup>; HC<sub>9</sub> 2,23±0,09 mg.g<sup>-1</sup>; HC<sub>12</sub> 2,13±0,07 mg.g<sup>-1</sup>; HC<sub>15</sub> 2,03±0,07 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>0</sub> 2,90±0,05 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>3</sub> 2,43±0,04 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>6</sub> 2,26±0,05 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>9</sub> 2,15±0,04 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>12</sub> 2,23±0,06 mg.g<sup>-1</sup>; HH<sub>15</sub> 2,68±0,08 mg.g<sup>-1</sup>. U parametru LVMI byl zjištěn signifikantní rozdíl při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty pouze při posledním měření. Při srovnání posledního měření s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru LVM vykazovaly v průběhu experimentu mírný pokles u obou skupin s výjimkou posledního měření u adaptovaných potkanů, kde došlo k jejich významnému nárůstu.

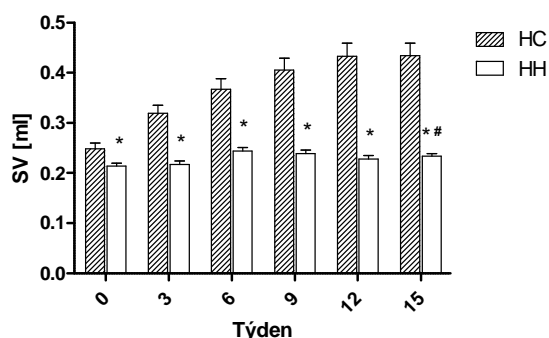


**Graf 5 – Vývoj a) hmotnosti levé komory srdeční (LVM) a b) indexu hmotnosti levé komory srdeční (LVMI) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)**

\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

Hodnoty tepového objemu jsou zobrazeny v grafu 6. Hodnoty SV jsou: HC<sub>0</sub> 0,248±0,012 ml; HC<sub>3</sub> 0,319±0,016 ml; HC<sub>6</sub> 0,367±0,021 ml; HC<sub>9</sub> 0,405±0,024 ml; HC<sub>12</sub> 0,433±0,026 ml; HC<sub>15</sub> 0,434±0,025 ml; HH<sub>0</sub> 0,214±0,006 ml; HH<sub>3</sub> 0,217±0,007 ml; HH<sub>6</sub> 0,244±0,007 ml; HH<sub>9</sub> 0,239±0,007 ml; HH<sub>12</sub> 0,228±0,007 ml; HH<sub>15</sub> 0,234±0,005 ml.

U parametru SV byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u hypoxických zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty v průběhu celého experimentu. Při srovnání koncové hodnoty SV u potkanů adaptovaných na hypoxii s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru SV byly u skupiny HH v průběhu experimentu relativně stabilní, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty SV stoupající tendenci v průběhu celého experimentu.



**Graf 6 – Tepový objem (SV) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)**

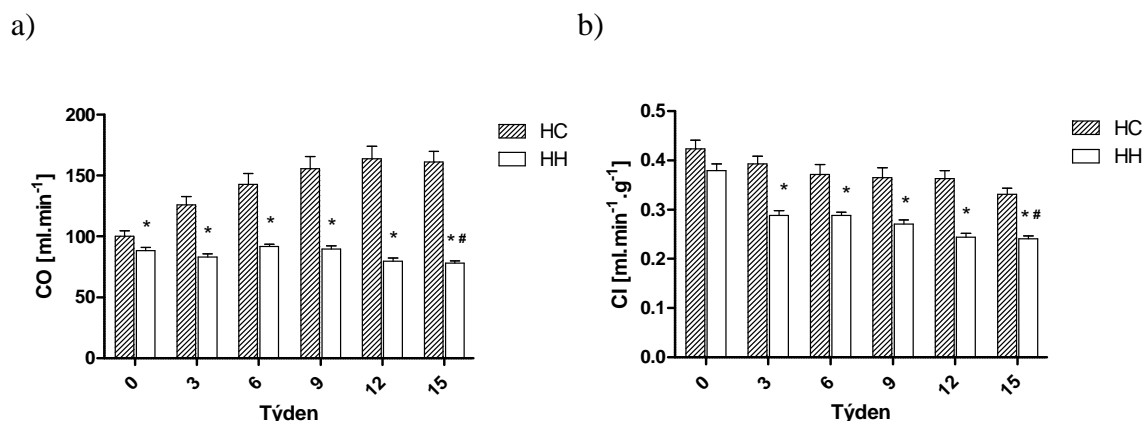
\*  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

#  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání koncové hodnoty u adaptovaných zvířat s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti

Vývoj hodnot parametru srdeční výdej je uvedený v grafu 7 a). Hodnoty parametru CO jsou: HC<sub>0</sub> 100,21±4,43 ml.min<sup>-1</sup>; HC<sub>3</sub> 126,06±6,86 ml.min<sup>-1</sup>; HC<sub>6</sub> 142,94±8,87 ml.min<sup>-1</sup>; HC<sub>9</sub> 155,75±9,94 ml.min<sup>-1</sup>; HC<sub>12</sub> 163,94±10,15 ml.min<sup>-1</sup>; HC<sub>15</sub> 161,24±8,60 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>0</sub> 88,24±2,79 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>3</sub> 83,06±2,75 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>6</sub> 91,81±1,89 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>9</sub> 89,53±2,87 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>12</sub> 79,76±2,45 ml.min<sup>-1</sup>; HH<sub>15</sub> 78,03±1,83 ml.min<sup>-1</sup>. U parametru CO byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty v průběhu celého experimentu. Při srovnání koncové hodnoty CO u hypoxických potkanů s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti byl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru CO byly u skupiny HH v průběhu experimentu stabilní s mírným poklesem v druhé polovině experimentu, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty CO mírnou stoupající tendenci v průběhu celého experimentu.



Hodnoty parametru srdeční index jsou vyneseny v grafu 7 b). Hodnoty parametru CI, normalizujícího srdeční výdej na hmotnost jedince, jsou: HC<sub>0</sub> 0,424±0,017 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HC<sub>3</sub> 0,393±0,016 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HC<sub>6</sub> 0,372±0,020 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HC<sub>9</sub> 0,365±0,020 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HC<sub>12</sub> 0,363±0,017 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HC<sub>15</sub> 0,331±0,013 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>0</sub> 0,380±0,013 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>3</sub> 0,288±0,010 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>6</sub> 0,288±0,007 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>9</sub> 0,271±0,008 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>12</sub> 0,244±0,008 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; HH<sub>15</sub> 0,241±0,006 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>. U parametru CI byly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u hypoxických zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty od 3. týdne experimentu. Při srovnání posledního měření s hodnotami u kontrolních zvířat se stejnou hmotností nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Hodnoty parametru CI u skupiny HH měly v průběhu celého experimentu tendenci klesat, u kontrolní skupiny vykazovaly hodnoty CI v průběhu celého experimentu klesající tendenci.



**Graf 7 – Vývoj parametru a) srdeční výdej (CO) a b) index srdečního výdeje (CI) u potkanů adaptovaných na hypobarickou hypoxii (HH) a u kontrol (HC)**

\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

# P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání koncové hodnoty u adaptovaných zvířat s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti

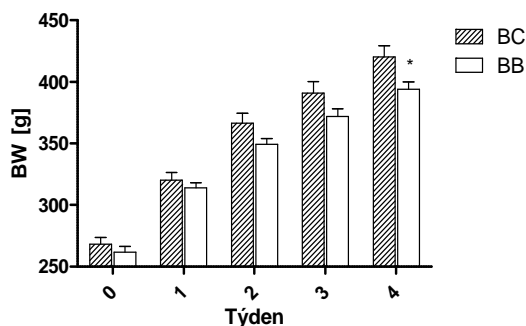
## 4.2 Adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž

Během adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž došlo k úhynu 1 laboratorního potkana v průběhu prvních dní adaptace, výsledky měření u tohoto jedince nebyly zahrnuty do celkových výsledků. Vzhledem k tomu, že potkani byli při rychlosti běhu pod nastavenou hranici vystaveni mírným elektrickým šokům, které mohou působit jako stresový faktor, byl u všech jedinců průběžně hodnocen průběh protokolu. Z těchto pozorování vyplývá, že všechna zvířata velmi dobře akceptovala nastavenou rychlost běhu.

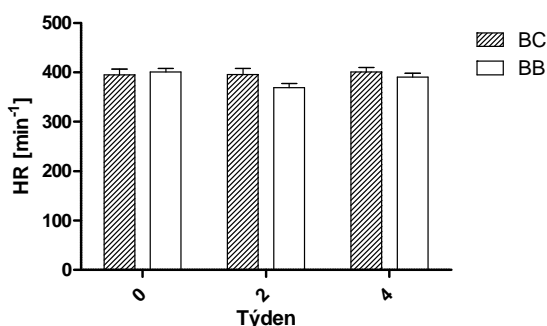
Průměrné hmotnosti zvířat určované v týdenních odstupech jsou zobrazeny v grafu 8 a). Hodnoty BW jsou: BC<sub>0</sub> 268±6 g; BC<sub>1</sub> 320±6 g; BC<sub>2</sub> 366±8 g; BC<sub>3</sub> 391±9 g; BC<sub>4</sub> 420±9 g; BB<sub>0</sub> 262±5 g; BB<sub>1</sub> 314±4 g; BB<sub>2</sub> 349±5 g; BB<sub>3</sub> 372±6,1 g; BB<sub>4</sub> 394±6 g. Signifikantní rozdíl hodnot zjištěných u potkanů vlivem adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž ve srovnání se stejně starými kontrolními zvířaty byl zjištěn pouze ve 4. týdnu protokolu. U kontrolních potkanů i u potkanů adaptovaných byla pozorována tendence růstu hodnot BW, u skupiny BB byl růst hmotnosti pomalejší.

Hodnoty tepové frekvence jsou zobrazeny v grafu 8 b). Hodnoty HR jsou: BC<sub>0</sub> 395±12 min<sup>-1</sup>; BC<sub>2</sub> 396±12 min<sup>-1</sup>; BC<sub>4</sub> 401±9 min<sup>-1</sup>; BB<sub>0</sub> 401±7 min<sup>-1</sup>; BB<sub>2</sub> 369±9 min<sup>-1</sup>; BB<sub>4</sub> 391±8 min<sup>-1</sup>. Při srovnání HR mezi stejně starými adaptovanými potkany a kontrolními potkany nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Při srovnání adaptovaných potkanů na konci experimentu s kontrolními zvířaty o stejné hmotnosti nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. U obou experimentálních skupin byla pozorována tendence k mírnému poklesu hodnoty HR s věkem.

a)



b)



Graf 8 – Vývoj a) hmotnosti a b) tepové frekvence u potkanů v průběhu adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a u kontrol (BC)

\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

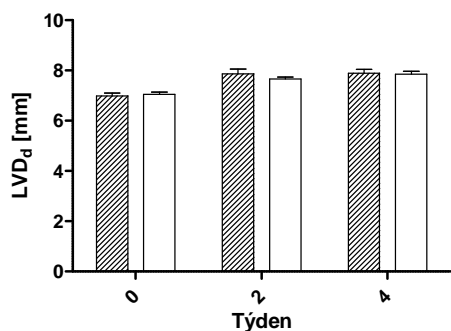
V tabulce 8 jsou uvedeny hodnoty základních echokardiografických parametrů geometrie levé komory srdeční u zvířat adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž a u kontrolních zvířat. Při srovnání všech uvedených hodnot mezi stejně starými potkany byl zjištěn signifikantní rozdíl pouze u hodnoty parametru AWT<sub>d</sub> při prvním měření. Při srovnání hodnot zjištěných u adaptovaných potkanů adaptovaných s kontrolními potkany o stejné hmotnosti nebyly zjištěny signifikantní rozdíly. U všech základních parametrů srdeční geometrie byl v rámci stejné experimentální skupiny pozorován nárůst jejich hodnoty s věkem. Hodnoty parametru rozměr levé komory v diastole a systole jsou dále zobrazeny v grafu 9 a) a b).

**Tabulka 8 – Hodnoty základních echokardiografických parametrů geometrie levé komory srdce u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a kontrolních potkanů (BC)**

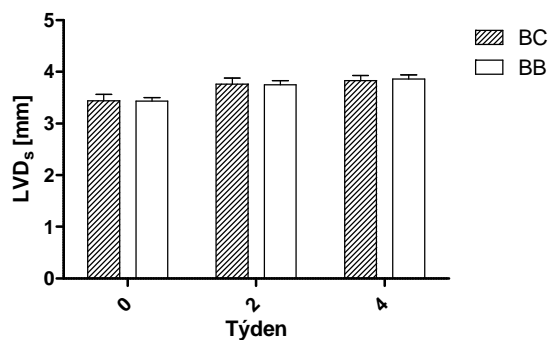
\* P < 0,05; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

Skupina	Týden	AWT <sub>d</sub> [mm]	LVD <sub>d</sub> [mm]	PWT <sub>d</sub> [mm]	AWT <sub>s</sub> [mm]	LVD <sub>s</sub> [mm]	PWT <sub>s</sub> [mm]
BC	0	1,44±0,02	6,98±0,12	2,62±0,05	3,22±0,05	3,44±0,12	2,29±0,07
	2	1,54±0,03	7,86±0,19	2,88±0,05	3,57±0,06	3,76±0,12	2,75±0,06
	4	1,57±0,03	7,89±0,15	3,01±0,07	3,63±0,06	3,83±0,10	2,91±0,06
BB	0	1,37±0,01*	7,05±0,09	2,64±0,03	3,22±0,03	3,43±0,07	2,61±0,06
	2	1,47±0,02	7,65±0,09	2,84±0,04	3,51±0,04	3,75±0,08	2,71±0,06
	4	1,52±0,03	7,85±0,11	3,00±0,05	3,59±0,08	3,86±0,08	2,85±0,05

a)



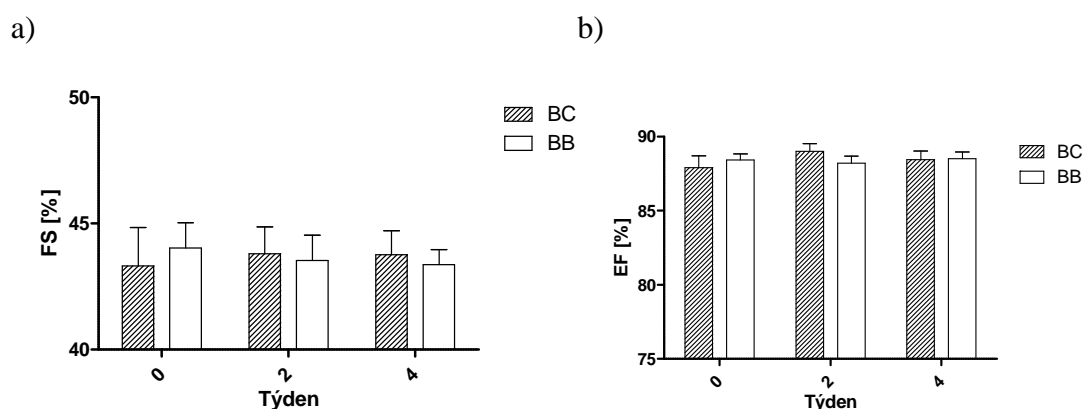
b)



**Graf 9 – Rozměr dutiny levé komory srdeční a) v diastole (LVD<sub>d</sub>) a b) v systole (LVD<sub>s</sub>) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a kontrol (BC)**

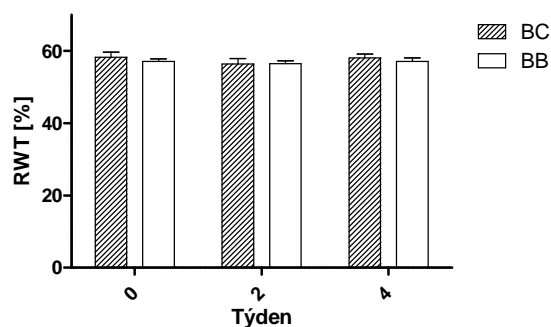
Vývoj hlavního funkčního ukazatele, parametru frakční zkrácení, je zobrazen v grafu 10 a). Hodnoty parametru FS jsou: BC<sub>0</sub> 43,32±1,52 %; BC<sub>2</sub> 43,80±1,06 %; BC<sub>4</sub> 43,76±0,95 %; BB<sub>0</sub> 44,02±1,01 %; BB<sub>2</sub> 43,54± 1,00 %; BB<sub>4</sub> 43,37±0,59 %. U parametru FS nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u zvířat adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru FS byly u obou skupin v průběhu experimentu stabilní.

Vývoj hodnot parametru ejekční frakce jsou zobrazeny v grafu 10 b). Hodnoty parametru EF jsou: BC<sub>0</sub> 87,92±0,79 %; BC<sub>2</sub> 89,00±0,53 %; BC<sub>4</sub> 88,46±0,59 %; BB<sub>0</sub> 88,43±0,41 %; BB<sub>2</sub> 88,22±0,47 %; BB<sub>4</sub> 88,12±0,36 %. U parametru EF nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u zvířat adaptovaných na fyzickou zátěž se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru EF byly u obou skupin v průběhu experimentu stabilní.



**Graf 10 – Parametry systolické funkce a) frakční zkrácení (FS) a b) ejekční frakce (EF) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a u kontrol (BC)**

Vývoj hodnot parametru tloušťky srdeční stěny levé komory je zobrazen v grafu 11. Hodnoty parametru RWT jsou: BC<sub>0</sub> 58,25±1,37 %; BC<sub>2</sub> 56,38±1,45%; BC<sub>4</sub> 58,06±1,08%; BB<sub>0</sub> 57,00±0,78%; BB<sub>2</sub> 56,41±0,84%; BB<sub>4</sub> 57,75±1,16%. U parametru RWT nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru RWT byly u obou skupin v průběhu experimentu stabilní.

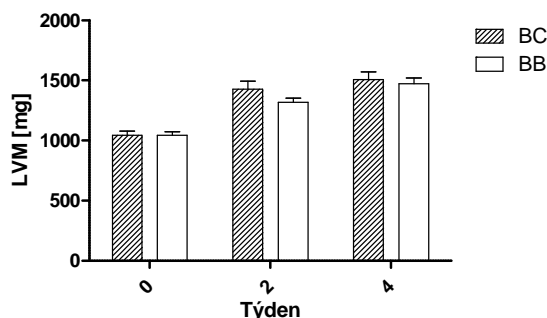


Graf 11 – Relativní tloušťky srdeční stěny levé komory srdeční (RWT) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a kontrol (BC)

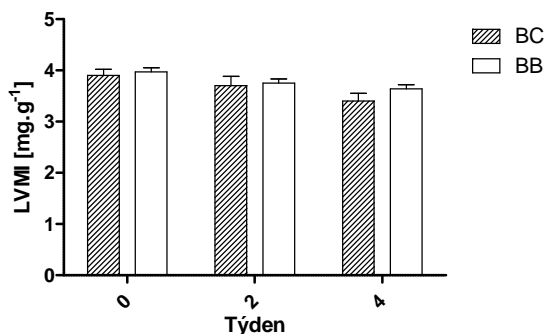
Hodnoty parametru hmotnost levé komory srdeční jsou vyneseny v grafu 12 a). Hodnoty parametru LVM jsou: BC<sub>0</sub> 1044,5±32,8 mg; BC<sub>2</sub> 1425,8±66,2 mg; BC<sub>4</sub> 1507,2±63,1 mg; BB<sub>0</sub> 1044,3±28,1 mg; BB<sub>2</sub> 1318±34,7 mg; BB<sub>4</sub> 1471,6±49,3 mg. U parametru LVM nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u zvířat adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru LVM vykazovaly v průběhu experimentu růst u obou skupin.

Index hmotnosti levé komory srdeční (normalizovaná hodnota parametru LVM) je pro obě experimentální skupiny zobrazen v grafu 12 b). Hodnoty parametru LVM jsou: BC<sub>0</sub> 3,90±0,12 mg.g<sup>-1</sup>; BC<sub>2</sub> 3,70±0,18 mg.g<sup>-1</sup>; BC<sub>4</sub> 3,40±0,15 mg.g<sup>-1</sup>; BB<sub>0</sub> 3,97±0,08 mg.g<sup>-1</sup>; BB<sub>2</sub> 3,75±0,08 mg.g<sup>-1</sup>; BB<sub>4</sub> 3,64±0,08 mg.g<sup>-1</sup>. U parametru LVMI nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru LVM vykazovaly v průběhu experimentu mírný pokles u obou skupin.

a)



b)



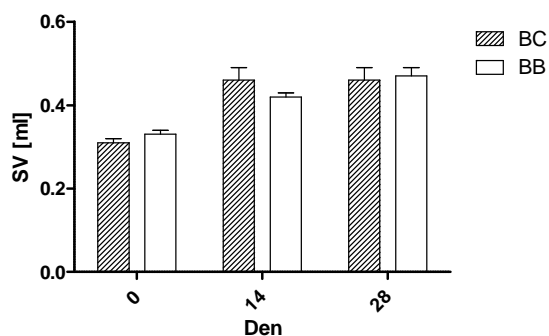
Graf 12 – Hmotnost levé komory srdeční (LVM) a) a index hmotnosti levé komory srdeční (LVMI) b) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a u kontrol (BC)

Hodnoty tepového objemu jsou vyneseny v grafu 13. Hodnoty SV jsou: BC<sub>0</sub> 0,314±0,014 ml; BC<sub>2</sub> 0,458±0,030 ml; BC<sub>4</sub> 0,459±0,027 ml; BB<sub>0</sub> 0,326±0,013 ml; BB<sub>2</sub> 0,416±0,015 ml; BB<sub>4</sub> 0,449±0,018 ml. U parametru SV nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými kontrolními zvířaty, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. V průběhu experimentu vykazovaly hodnoty parametru SV růst v rámci obou experimentálních skupin.

Vývoj hodnoty parametru srdeční výdej je zobrazen v grafu 14 a). Hodnoty parametru CO jsou: BC<sub>0</sub> 123,05±3,95 ml.min<sup>-1</sup>; BC<sub>2</sub> 179,96±11,02 ml.min<sup>-1</sup>; BC<sub>4</sub> 183,17±9,99 ml.min<sup>-1</sup>; BB<sub>0</sub> 130,12±4,84 ml.min<sup>-1</sup>; BB<sub>2</sub> 153,03±5,65 ml.min<sup>-1</sup>; BB<sub>4</sub> 174,37±6,11 ml.min<sup>-1</sup>. Po 2 týdnech od začátku experimentu byl zjištěn signifikantní rozdíl u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž ve srovnání se stejně starými zvířaty. Při srovnání zvířat adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti nebyly zjištěny signifikantní rozdíly. Hodnoty parametru CO vykazovaly u obou skupin v průběhu experimentu růst.

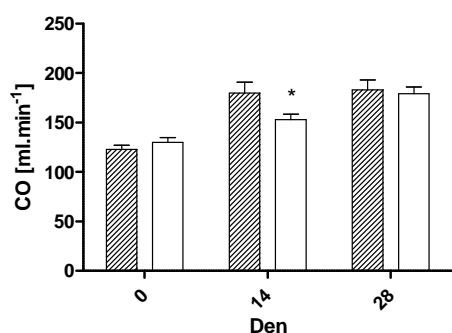
Hodnoty parametru srdeční index jsou zobrazeny v grafu 14 b). Hodnoty parametru CI, normalizujícího srdeční výdej na hmotnost jedince, jsou: BC<sub>0</sub> 0,460±0,016 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; BC<sub>2</sub> 0,465±0,023 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; BC<sub>4</sub> 0,412±0,018 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; BB<sub>0</sub> 0,494±0,013 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; BB<sub>2</sub> 0,436±0,015 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>; BB<sub>4</sub> 0,422±0,013 ml.min<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup>. U parametru CI nebyly zjištěny signifikantní rozdíly při srovnání hodnot u adaptovaných zvířat se stejně starými

kontrolami, ani při srovnání s kontrolní skupinou o stejné hmotnosti. Hodnoty parametru CI vykazovaly u obou skupin v průběhu experimentu mírný pokles.

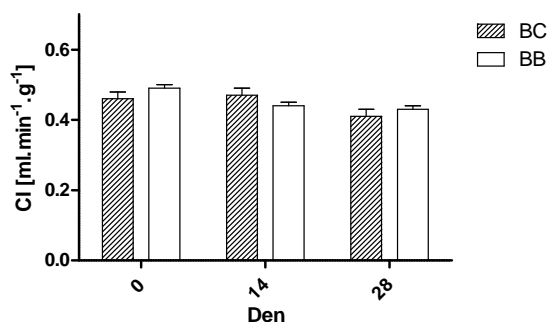


Graf 13 – Tepový objem (SV) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a u kontrol (BC)

a)



b)



Graf 14 – Vývoj parametru a) srdeční výdej (CO) a b) index srdečního výdeje (CI) u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž (BB) a u kontrol (BC)

\*  $P < 0,05$ ; statisticky významný rozdíl; srovnání hodnot u stejně starých zvířat

## **5 Diskuze**

### **Podmínky echokardiografických vyšetření a přesnost měření**

Výsledky echokardiografických vyšetření mohou být ovlivněny řadou vnějších podmínek. Pokles tělesné teploty způsobený anestezií a polohou zvířete při vyšetření může vést k poklesu tepové frekvence a dalších parametrů srdeční funkce (Hannon 1958). V našem experimentu bylo tomuto problému předcházeno umístěním vyšetřovaných zvířat na vyhřívanou podložku, průběžným monitorování tepové frekvence a tělesné teploty a minimalizací délky samotného vyšetření. Během vyšetření docházelo k poklesu tělesné teploty zhruba o 0,5°C (měřeno rektálním teploměrem), přičemž vliv tohoto poklesu byl minimální.

Jak vyplývá z řady prací (například Stein et al. 2007, Saha et al. 2007, Chaves et al. 2001) srdeční funkce může být ovlivněna použitým anestetikem a typem jeho aplikace. V některých pracích je například cíleně používána kombinace anestetik ketamin-xylazin ke snížení tepové frekvence a usnadnění echokardiografického vyšetření (Plante et al. 2006). V některých případech jsou vyšetření naopak prováděna v bdělém stavu, aby byl vyloučen vliv anestetik na funkci srdce (Doursout et al. 2001; Brooks et al. 2003), to však může být spojeno se změnami měřených hodnot v důsledku stresové reakce zvířat. Dále je při různém způsobu podání anestetik nutné počítat s tím, že v případě intraperitoneálního podání nemusí být koncentrace účinné látky v tkáních přesně a s jistotou určena a může se v čase významně měnit. Naproti tomu inhalační anestezie umožňuje přesné kontinuální dávkování podávaného anestetika, a jeho koncentrace v tkáni je tak v čase stabilní. Nástup a odeznění anestezie je navíc výrazně rychlejší. V našich experimentech jsme proto zvolili anestezii zvířat pomocí inhalace směsi isofluranu se vzduchem. Z práce Říhy et al. (2012) přitom vyplývá, že v běžně používaných koncentracích (1,5-2,5 %) tato anestezie neovlivňuje echokardiograficky měřené parametry srdeční geometrie a funkce.

Echokardiografická měření byla prováděna na přístrojích Vingmed-System Five a Vingmed Vivid 7 Dimension. Z dlouhodobých zkušeností na našem pracovišti vyplývá, že přes rozdíly v konstrukci použitých echokardiografických sond jsou výsledky měření na levé srdeční komoře u obou těchto přístrojů stejné. V této práci byly použity experimentální skupiny o velikosti 8 až 20 zvířat. Při zjišťování základních echokardiografických parametrů přitom bylo dosahováno standardní odchylky přibližně



1 až 2 %, což odpovídá obvyklým hodnotám u obdobně velkých experimentálních skupin (Kim et al. 2011, Weytjens et al. 2006). Lze tedy tvrdit, že podmínky echokardiografických vyšetření neměly vliv na výsledné hodnoty zjišťovaných parametrů a dosahovaly obvyklé přesnosti a kvality.

Experimentální echokardiografie malých laboratorních zvířat je obor vycházející z klinické praxe. Z tohoto důvodu je pro hodnocení srdeční funkce používána celá řada parametrů, které byly převzaty z klinické praxe a případně upraveny pro potřeby experimentu. Pro hodnocení srdeční funkce a geometrie byly v této práci použity zejména základní echokardiografické parametry LVD, AWT a PWT a z nich odvozené echokardiografické parametry systolické funkce FS a EF, parametry RWT, LVM a LVMI, které v kombinaci s parametrem  $LVD_d$  dávají informaci o případné dilataci či hypertrofii levé komory, a dále parametry SV, CO, CI pomocí nichž lze hodnotit čerpací funkci srdce. Přestože pro hodnocení objemu a hmotnosti levé komory lze použít řadu aproximací, které přesněji odrážejí reálný tvar levé komory, v rámci této práce byl použit model kubické aproximace. Nepřímo určené hodnoty parametrů LVV, SV či LVM proto nemusí v absolutních hodnotách zcela odpovídat reálné situaci, zejména při výrazných odchylkách tvaru levé komory. Vznik těchto abnormalit však nebyl u sledovaných modelů předpokládán. Pro tuto práci byl navíc klíčový vývoj hodnot těchto parametrů a zejména relativní rozdíly mezi skupinami, které jsou velmi dobře zjištěitelné i pomocí jednodušších geometrických aproximací (Litwin et al. 1994).

Parametry diastolické funkce levé komory v této práci nebyly hodnoceny vzhledem k tomu, že v rámci experimentálních skupin nebylo možné provést dostatečný počet kvalitních záznamů průtoku krve na mitrální chlopni s rozlišením vln rychlosti časného a pozdního plnění (pro stanovení parametru E/A). Obecně lze čitelnost záznamu měření průtoku na mitrální chlopni a rozlišitelnost vln zlepšit použitím speciálních echokardiografických přístrojů pro vyšetření laboratorních zvířat (například Visualsonics Vevo 770), nebo použitím anestezie pomocí ketaminu a xylazinu, které snižuje tepovou frekvenci (Tanaka et al. 1996, Kawahara et al. 2005). V principu ale záměrné snížení tepové frekvence vede k ovlivnění výsledků měření a při použití ketamin-xylazinu má vliv na řadu parametrů včetně FS (Kawahara et al. 2005).

## **Adaptace na hypobarickou hypoxii**

V této části experimentu byli laboratorní potkani adaptováni na intermitentní hypobarickou hypoxii při rostoucím stupni hypoxie, odpovídajícímu podmínkám v nadmořské výšce od 4 000 do 8 000 m n.m. Zvířata adaptovaná na tyto podmínky ve srovnání s kontrolními potkany výrazně pomaleji přibývala na váze, což je v souladu s předchozími pozorováními (Asemu et al. 2000, Neckář et al. 2004). U obou skupin (HH i HC) byl pozorován pokles tepové frekvence, který byl u hypoxicky adaptovaných zvířat výraznější, což také odpovídá zjištění Neckáře et al. (2004). Například v práci Youana et al. (2008), kde byl stupeň hypoxie na úrovni 5 000 metrů, přitom nebyly pozorovány změny HR ani BW. Možné vysvětlení tohoto rozdílu je v použití odlišného kmene potkanů (Sprague-Dawley) a použití nižšího stupně hypoxie. Pokles tepové frekvence u adaptovaných zvířat v našem experimentu může souviset s výrazným nárůstem hematokritu, jak bude diskutováno dále.

U kontrolních zvířat byl pozorován fyziologický růst levé komory (proporcionální růst  $LVD_d$  i  $LVD_s$ ), který je spojen s růstem tělesné hmotnosti. S tím souvisí i růst hodnot parametrů LVM, SV nebo CO. Mírný pokles hodnoty parametru RWT přitom demonstruje relativně rychlejší zvětšování dutiny levé komory ve srovnání se srdeční stěnou. Ke stejným závěrům dospěly i práce Haase et al. (1995) nebo Holinskiho et al. (2011). U adaptovaných potkanů byly geometrické parametry (jak základní, tak odvozené – LVM, SV, CO) stabilní, což pravděpodobně souvisí se stabilní hmotností adaptovaných zvířat. Toto vysvětlení je podpořeno i vývojem parametru LVMI, který se u kontrolních potkanů a kontrol nelišil a ke stejným výsledkům dospěla například i práce Yuana et al. 2008.

Během adaptace na hypoxii nedošlo ke změnám echokardiografických parametrů, které by ukazovaly na dilataci či hypertrofii komory až do úrovně hypoxie, odpovídající 7000 m n.m., včetně. Zjištěné změny velikosti komory odpovídaly vývoji tělesné hmotnosti a parametr RWT se neměnil. Teprve při posledním měření došlo k výraznému růstu tloušťky srdečních stěn a ukazatele RWT u adaptovaných zvířat. Tento rozdíl byl významný i při srovnání se stejně starými zvířaty a lze tedy předpokládat, že hypobarická hypoxie nad úrovní 7 000 metrů nad mořem je již spojena s tak velkou zátěží kardiovaskulárního systému, která se projeví koncentrickou hypertrofií. Tyto změny se

přítom projevily i růstem hodnoty LVM a zejména signifikantním rozdílem u hodnot parametru LVMI při posledním měření.

Stabilní hodnoty byly zjištěny pro hlavní funkční parametry FS a EF u adaptovaných zvířat, na rozdíl od jejich mírného poklesu u kontrolních potkanů. Ke zhoršení systolické funkce (dle vývoje parametrů FS a EF) přitom nedošlo ani při adaptaci na nejvyšší použitý stupeň hypoxie, odpovídající 8000 m n.m. Obdobnou problematikou u potkanů adaptovaných na hypoxii se přímo nezabývají žádné dostupné zdroje. Teoreticky může být stabilita těchto ukazatelů spojena s tím, že levá komora se nezvětšovala. Pravděpodobný je však i vliv hypoxie na beta-adrenergní signalizaci, kterou jako vysvětlení podobného vlivu adaptace na intermitentní hypoxii navrhuje Naghshin et al. (2009), který pozoroval zlepšení systolické funkce u adaptovaných myší.

Velmi zajímavý vliv adaptace byl pozorován také při vývoji hodnot srdečního výdeje a indexu srdečního výdeje. Srdeční výdej u adaptovaných zvířat v průběhu experimentu na rozdíl od kontrol nerostl, což by mohlo odpovídat vývoji tělesné hmotnosti u těchto skupin. Po přepočtu na index srdečního výdeje (normalizace na hmotnost zvířat) se ukázal pokles tohoto ukazatele v obou skupinách, který byl však u adaptovaných zvířat signifikantně větší již od úrovně 4000 m. Tento rozdíl lze s největší pravděpodobností vysvětlit výrazným zvýšením hematokritu (Richardson et al. 2009, Siqués et al. 2006). Tyto změny vedou ke zvýšení transportní kapacity krve pro kyslík a metabolické potřeby tkání mohou být zajištěny i při nižším celkovém průtoku.

Adaptace na hypobarickou hypoxii tedy nevedla ke zhoršení systolické funkce a až do úrovně 7000 m ani k hypertrofickému růstu levé komory.

### **Adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž**

V této části experimentu byli laboratorní potkani adaptováni na zvýšenou fyzickou zátěž formou nuceného běhání na pohyblivém pásu. Tento typ adaptace, na rozdíl od adaptace na hypoxii, je založen na aktivitě zvířat. Z toho důvodu byl experiment prováděn ve večerních hodinách, tedy v aktivní fázi dne potkanů, při snížené teplotě, aby byla usnadněna termoregulace při fyzické zátěži, a u každého jedince byla navíc individuálně

hodnocena schopnost akceptovat nastavenou rychlost běhu. Všechna zvířata absolvovala celý protokol adaptace s velmi dobrým hodnocením a nebyla tedy nadměrně stresována podmínkami nuceného běhání na pásu, ani elektrickými impulsy, kterým byli potkani vystaveni v případě, že neběželi.

Při srovnání hodnot základních echokardiografických parametrů nebyly mezi experimentálními skupinami zjištěny prakticky žádné rozdíly. U obou skupin docházelo k mírnému růstu hodnot parametrů AWT, LVD, PWT, i LVM, což je v souladu s předchozími pozorováními u kontrolních potkanů (Haas et al. 1995, Reffelman a Kloner 2003). Hodnoty RWT byly stabilní, z čehož vyplývá, že růst levé komory byl fyziologický a nebyla tedy zjištěna žádná forma hypertrofie, či dilatace. Růst velikosti komory se promítá i do nárůstu hodnoty parametru SV, který se při srovnání experimentálních skupin opět nelišil. Nepotvrdila se tedy hypertrofie levé komory, kterou u potkanů pozoroval např. Kissling a Wendt-Gallitelli (1977) nebo Iemitsu et al. (2005). Vzhledem k tomu, že intenzita fyzické zátěže, respektive rychlost běhu, byla v naší práci prakticky stejná, je rozdíl s největší pravděpodobností dán, spíše než intenzitou, celkovou délkou adaptace na fyzickou zátěž, která byla v uvedených dvou studiích větší.

Vývoj parametru CO byl u obou skupin srovnatelný a docházelo k jeho mírnému růstu, což lze vysvětlit zvýšenými metabolickými nároky organismu při zvětšující se tělesné hmotnosti. Jak ovšem demonstrují parametry LVMI a CI, tento nárůst není hmotnosti přímo úměrný. V tomto nebyl rozdíl mezi kontrolní a adaptovanou skupinou. S tím může souviset i to, že u potkanů adaptovaných na zvýšenou fyzickou zátěž nedochází ke zvýšení hodnoty hematokritu (Navas a Córdova 2000).

Parametry systolické funkce levé komory (FS a EF) během experimentu mírně poklesly u obou experimentálních skupin a mezi skupinami se přitom nelišily. Z toho vyplývá, že adaptace na použitý protokol zvýšené fyzické zátěže není spojena s negativním vlivem na systolickou funkci.

Použitý protokol adaptace na zvýšenou fyzickou zátěž tedy není spojen se změnami srdeční geometrie nebo systolické funkce.

## 6 Závěr

Tato práce sledovala možné změny systolické funkce a geometrie levé srdeční komory spojené s adaptací na postupně se zvyšující stupeň intermitentní hypobarické hypoxie a na zvýšenou fyzickou zátěž.

Při adaptaci na hypoxii

- nedošlo ke zhoršení echokardiografických ukazatelů systolické funkce levé komory v průběhu celého experimentu;
- byly zjištěny známky koncentrické hypertrofie levé komory pouze při stupni hypoxie odpovídající nadmořské výšce nad 7 000 m.

Při adaptaci na zvýšenou fyzickou zátěž

- nedošlo ke zhoršení ukazatelů systolické funkce levé komory v průběhu celého experimentu;
- nedošlo ke změnám geometrie levé komory v průběhu celého experimentu.

Lze shrnout, že protokoly adaptace na intermitentní hypobarickou hypoxii (do 7 000 m n.m. včetně) a na zvýšenou fyzickou zátěž, používané ke studiu kardioprotektivních mechanismů, nejsou spojeny s nepříznivými změnami systolické funkce a geometrie levé srdeční komory.

## 7 Použitá Literatura

- Abete P, Ferrara N, Cioppa A, Ferrara P, Bianco S, Calabrese C, Cacciatore F, Longobardi G, Rengo F. (1996) Preconditioning does not prevent postischemic dysfunction in aging heart. *Journal of the American College of Cardiology* 27: 1777–1786.
- Asemu G, Neckář J, Szárszoi O, Papoušek F, Ošťádal B, Kolář F. (2000). Effects of adaptation to intermittent high altitude hypoxia on ischemic ventricular arrhythmias in rats. *Physiological Research* 49(5): 597-606.
- Béguin PC, Joyeux-Faure M, Godin-Ribuot D, Lévy P, Ribuo C. (2005) Acute intermittent hypoxia improves rat myocardium tolerance to ischemia. *Journal of applied physiology* 99(3): 1064-9.
- Brenner DA, Apstein CS, Saupe KW. (2001) Exercise training attenuates age-associated diastolic dysfunction in rats. *Circulation* 104(2): 221-6.
- Brown DA, Jew KN, Sparagna GC, Musch TI, Moore RL. (2003) Exercise training preserves coronary flow and reduces infarct size after ischemia-reperfusion in rat heart. *Journal of applied physiology* 95(6): 2510-8.
- Cason BA, Gamperl AK, Slocum RE, Hickey RF. (1997) Anesthetic-induced preconditioning: previous administration of isoflurane decreases myocardial infarct size in rabbits. *Anesthesiology* 87(5): 1182-90.
- Coatney RW. (2001) Ultrasound imaging: principles and applications in rodent research. *ILAR Journal* 42(3): 233-47.
- Collins KA, Korcarz CE, Shroff SG, Bednarz JE, Fentzke RC, Lin H, Leiden JM, Lang RM (2001): Accuracy of echocardiographic estimates of left ventricular mass in mice. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology* 280(5): H1954-62.
- Doppler C. (1842) Über das farbige Licht der Doppelsterne und einiger anderer Gestirne des Himmels. *Borosch und André*.
- Doursout MF, Wouters P, Kashimoto S, Hartley CJ, Rabinovitz R, Chelly JE. (2001) Measurement of cardiac function in conscious rats. *Ultrasound in Medicine & Biology* 27(2): 195-202.

- Brooks WW, Conrad CH, Nedder AP, Bing OH, Slawsky MT. (2003) Thoracic massage permits use of echocardiography in unanesthetized rats. *Comparative medicine* 53(3): 288-92.
- Escudero EM, Camilión de Hurtado MC, Pérez NG, Tufare AL. (2004) Echocardiographic assessment of left ventricular midwall mechanics in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Echocardiography* 5(3): 169-75.
- Esposito F, Ronchi R, Milano G, Margonato V, Di Tullio S, Marini M, Veicsteinas A, Samaja M. (2011) Myocardial tolerance to ischemia-reperfusion injury, training intensity and cessation. *European journal of applied physiology* 111(5): 859-68.
- Feigenbaum H, Popp RL, Wolfe SB, Troy BL, Pombo JF, Haine CL, Dodge HT. (1972) Ultrasound measurements of the left ventricle. A correlative study with angiocardiology. *Archives of internal medicine* 129(3): 461-7.
- Folland ED, Parisi AF, Moynihan PF, Jones DR, Feldman CL, Tow DE. (1979) Assessment of left ventricular ejection fraction and volumes by real-time, two-dimensional echocardiography. A comparison of cineangiographic and radionuclide techniques. *Circulation* 60(4): 760-6.
- Freimann S, Scheinowitz M, Yekutieli D, Feinberg MS, Eldar M, Kessler-Icekson G. (2005) Prior exercise training improves the outcome of acute myocardial infarction in the rat. Heart structure, function, and gene expression. *Journal of the American College of the Cardiology* 45(6): 931-8.
- Gay-Jordi G, Guash E, Benito B, Brugada J, Nattel S, Mont L, Serrano-Mollar A. (2013) Losartan prevents heart fibrosis induced by long-term intensive exercise in an animal model. *PLoS One* 8(2): e55427.
- Gao XM, Dart AM, Dewar E, Jennings G, Du XJ. (2000) Serial echocardiographic assessment of left ventricular dimensions and function after myocardial infarction in mice. *Cardiovascular Research* 45(2): 330-8.
- Gentry-Smetana S, Redford D, Moore D, Larson DF. (2008) Direct effects of volatile anesthetics on cardiac function. *Perfusion* 23(1): 43-7.
- Gillebert TC, Van de Veire N, De Buyzere ML, De Sutter J. (2004) Time intervals and global cardiac function. Use and limitations. *European Heart Journal* 25(24): 2185-6.

- Gross ER, Peart JN, Hsu AK, Auchampach JA, Gross GJ. (2005) Extending the cardioprotective window using a novel delta-opioid agonist fentanyl isothiocyanate via the PI3-kinase pathway. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology* 288(6): H2744-9.
- Haas GJ, McCune SA, Brown DM, Cody RJ. (1995) Echocardiographic characterization of left ventricular adaptation in a genetically determined heart failure rat model. *American heart Journal* 130(4): 806-11.
- Hamilton KL, Staib JL, Phillips T, Hess A, Lennon SL, Powers SK. (2003) Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free radical biology & medicine* 34(7): 800-9.
- Hampl V, Herget J. (2000) Role of nitric oxide in the pathogenesis of chronic pulmonary hypertension. *Physiological Reviews* 80: 1337 - 1372.
- Hannon JP. (1958) Effect of temperature on the heart rate, electrocardiogram and certain myocardial oxidations of the rat. *Circulation Research* 6(6): 771-8.
- Hart CYT, Burnett JC Jr., Redfield MM. (2001) Effects of avertin versus xylazine-ketamine anesthesia on cardiac function in normal mice. *Heart and Circulatory Physiology: American Journal of Physiology* 281: H1938-H1945.
- Holinski S, Knebel F, Heinze G, Konertz W, Baumann G, Borges AC. (2011) Noninvasive monitoring of cardiac function in a chronic ischemic heart failure model in the rat: assessment with tissue Doppler and non-Doppler 2D strain echocardiography. *Cardiovascular Ultrasound* 26; 9-15.
- Hoshida S, Yamashita N, Otsu K, Hori M. (2002) The importance of manganese superoxide dismutase in delayed preconditioning: involvement of reactive oxygen species and cytokines. *Cardiovascular Research* 55(3): 495-505.
- Hurtado A. (1960): Some clinical aspects of life at high altitudes. *Annals of Internal Medicine* 53: 247-58.
- Chaves AA, Weinstein DM, Bauer JA. (2001) Non-invasive echocardiographic studies in mice: influence of anesthetic regimen. *Life Sciences* 69(2): 213-22.
- Chaves EA, Pereira-Junior PP, Fortunato RS, Masuda MO, de Carvalho AC, de Carvalho DP, Oliveira MF, Nascimento JH. (2006) Nandrolone decanoate impairs exercise-



induced cardioprotection: role of antioxidant enzymes. *The Journal of steroid chemistry and molecular biology* 99(4-5): 223-30.

- Chicco AJ, McCune SA, Emter CA, Sparagna GC, Rees ML, Bolden DA, Marshall KD, Murphy RC, Moore RL. (2008) Low-intensity exercise training delays heart failure and improves survival in female hypertensive heart failure rats. *Hypertension* 51(4): 1096-102.
- Iemitsu M, Maeda S, Miyauchi T, Matsuda M, Tanaka H. (2005) Gene expression profiling of exercise-induced cardiac hypertrophy in rats. *Acta physiologica Scandinavica* 185(4): 259-70.
- Jancso G, Cserepes B, Gasz B, Benko L, Ferencz A, Borsiczky B, Lantos J, Dureja A, Kiss K, Szeberényi J, Roth E. (2005) Effect of acetylsalicylic acid on nuclear factor-kappaB activation and on late preconditioning against infarction in the myocardium. *Journal of cardiovascular pharmacology* 46(3): 295-301.
- Jegger D, Jeanrenaud X, Nasratullah M, Chassot PG, Mallik A, Tevæarai H, von Segesser LK, Segers P, Stergiopulos N. (2006) Noninvasive Doppler-derived myocardial performance index in rats with myocardial infarction: validation and correlation by conductance catheter. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology* 290(4): H1540-8.
- Jones EJ, Mendes L, Rudd MA, Ross G, Loscalzo J, Zhang Y-Y. (2002) Serial noninvasive assesment of progressive pulmonary hypertesion in a rat model. *Heart and Circulatory Physiology: American Journal of Physiology* 283: 364-371.
- Kawahara Y, Tanonaka K, Daicho T, Nawa M, Oikawa R, Nasa Y, Takeo S (2005) Preferable anesthetic conditions for echocardiographic determination of murine cardiac function. *Journal of pharmacological sciences* 99(1): 95-104.
- Karatzis EN, Giannakopoulou AT, Papadakis JE, Karazachos AV, Nearchou NS. (2009) Myocardial performance index (Tei index): evaluating its application to myocardial infarction. *Hellenic Journal of Cardiology* 50(1): 60-5.
- Kersten JR, Schmeling TJ, Pagel PS, Gross GJ, Warltier DC. (1997) Isoflurane mimics ischemic preconditioning via activation of K(ATP) channels: reduction of myocardial infarct size with an acute memory phase. *Anesthesiology* 87(2): 361-70.

- Kim KH, Kim YJ, Lee SP, Kim HK, Seo JW, Sohn DW, Oh BH, Park YB. (2011) Survival, exercise capacity, and left ventricular remodeling in a rat model of chronic mitral regurgitation: serial echocardiography and pressure-volume analysis. *Korean Circulation Journal* 41(10): 603-11.
- Kissling G, Wendt-Gallitelli MF. (1977) Dynamics of the hypertrophied left ventricle in the rat. Effects of physical training and chronic pressure load. *Basic research in cardiology* 72(2-3): 178-83.
- Kopecký M, Daum S. (1958) Tkáňová adaptace na anoxii v myokardu krysy. *Československá fyziologie* 7: 518–21.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise J, Solomon S, Spencer KT, St John Sutton M, Stewart W. (2006) Recommendations for chamber quantification. *European Journal of Echocardiography* 7(2): 79-108.
- Lennon SL, Quindry JC, French JP, Kim S, Mehta JL, Powers SK. (2004) Exercise and myocardial tolerance to ischaemia-reperfusion. *Acta Physiologica Scandinavica* 182(2): 161-9.
- Li Q, Guo Y, Tan W, Stein AB, Dawn B, Wu WJ, Zhu X, Lu X, Xu X, Siddiqui T, Tiwari S, Bolli R. (2005) Gene therapy with iNOS provides long-term protection against myocardial infarction without adverse functional consequences. *Heart and Circulatory Physiology: American Journal of Physiology* 290(2): H584-9.
- Libonati JR, Sabri A, Xiao C, Macdonnell SM, Renna BF. (2011) Exercise training improves systolic function in hypertensive myocardium. *Journal of applied physiology* 111(6): 1637-43.
- Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. (1994) Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. *Circulation* 89(1): 345-54.
- Maiffrino LB, Araújo RC, Faccini CC, Liberti EA, Gama EF, Ribeiro AA, Souza RR. (2009) Effect of exercise training on aging-induced changes in rat papillary muscle. *Arquivos brasileiros de cardiologia* 92(5): 356-60, 373-7, 387-92.

- McDonald IG, Feigenbaum H, Chang S. (1972) Analysis of left ventricular wall motion by reflected ultrasound. Application to assessment of myocardial function. *Circulation* 46(1): 14-25.
- McElroy CL, Gissen SA, Fishbein MC. (1978) Exercise-induced reduction in myocardial infarct size after coronary artery occlusion in the rat. *Circulation* 57(5): 958-62.
- Moisés VA, Ferreira RL, Nozawa E, Kanashiro RM, Campos O, Andrade JL, Carvalho AC, Tucci PJ. (2000) Structural and functional characteristics of rat hearts with and without myocardial infarct. Initial experience with Doppler echocardiography. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 75(2): 125-36.
- Morgan EE, Faulx MD, McElfresh TA, Kung TA, Zawaneh MS, Stanley WC, Chandler MP, Hoit BD. (2004) Validation of echocardiographic methods for assessing left ventricular dysfunction in rats with myocardial infarction. *American Journal of Physiology Heart and Circulation Physiology* 287(5): H2049-53.
- Morris JN, Everitt MG, Pollard R, Chave SP, Semmence AM. (1980) Vigorous exercise in leisure-time: protection against coronary heart disease. *Lancet* 2(8206): 1207-10.
- Mortimer EA, Monson RR, MacMahon B. (1977) Reduction in Mortality from Coronary Heart Disease in Men Residing at High Altitude. *The New England journal of medicine* 296: 581-585.
- Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. (1986) Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 74(5): 1124-36.
- Neckář J, Szárszoi O, Herget J, Ošťádal B, Kolář F. (2003) Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia. *Physiological Research* 52(2): 171-5.
- Neckář J, Ošťádal B, Kolář F. (2004) Myocardial infarct size-limiting effect of chronic hypoxia persists for five weeks of normoxic recovery. *Physiological Research* 53(6): 621-8.
- Ovize M, Baxter GF, Di Lisa F, Ferdinandy P, Garcia-Dorado D, Hausenloy DJ, Heusch G, Vinten-Johansen J, Yellon DM, Schulz R. (2010) Postconditioning and protection from reperfusion injury: where do we stand? *Cardiovascular Research* 87(3): 406-23.

- Özdemir K, Balci S, Duzenli MA, Can I, Yazici M, Aygul N, Altunkeser BB, Altintepe L, Turk S. (2007) Effect of preload and heart rate on the doppler and tissue doppler-derived myocardial performance index. *Clinical Cardiology* 30(7): 342-8.
- Paffenbarger RS Jr, Hyde RT, Wing AL, Lee IM, Jung DL, Kampert JB. (1993) The association of changes in physical-activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. *The New England journal of medicine* 328(8): 538-45.
- Pearl JN, Gross ER, Headrick JP, Gross GJ. (2007) Impaired p38 MAPK/HSP27 signaling underlies aging-related failure in opioid-mediated cardioprotection. *Journal of molecular and cellular cardiology* 42: 972–980.
- Pearl JN, Headrick JP. (2008) Sustained cardioprotection: exploring unconventional modalities. *Vascular Pharmacology* 49(2-3): 63-70.
- Plante E, Lachance D, Roussel E, Drolet MC, Arsenault M, Couet J. (2006) Impact of anesthesia on echocardiographic evaluation of systolic and diastolic function in rats. *Journal of the American Society of Echocardiography* 19(12): 1520-5.
- Pombo JF, Troy BL, Russell RO Jr. (1971) Left ventricular volumes and ejection fraction by echocardiography. *Circulation* 43(4): 480-90.
- Popp RL, Harrison DC. (1970) Ultrasonic cardiac echography for determining stroke volume and valvular regurgitation. *Circulation* 41(3): 493-502.
- Quinones MA, Waggoner AD, Reduto LA, Nelson JG, Young JB, Winters WL Jr, Ribeiro LG, Miller RR. (1981) A new, simplified and accurate method for determining ejection fraction with two-dimensional echocardiography. *Circulation* 64(4): 744-53.
- Reffelmann T, Kloner RA. (2003): Transthoracic echocardiography in rats. Evaluation of commonly used indices of left ventricular dimensions, contractile performance, and hypertrophy in a genetic model of hypertrophic heart failure (SHHF-Mcc-facp-Rats) in comparison with Wistar rats during aging. *Basic research in cardiology* 98(5): 275-84.
- Richardson MX, de Bruijn R, Schagatay E. (2009) Hypoxia augments apnea-induced increase in hemoglobin concentration and hematocrit. *European journal of applied physiology* 105(1): 63-8.

- Říha H., Papoušek F, Neckář J, Pirk J, Ošťádal B. (2012) Effects of Isoflurane Concentration on on Basic Echocardiographic Parameters of the Left Ventricle in Rats. *Physiological Research* 61: 419-423.
- Saha DC, Saha AC, Malik G, Astiz ME, Rackow EC. (2007) Comparison of cardiovascular effects of tiletamine-zolazepam, pentobarbital, and ketamine-xylazine in male rats. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 46(2): 74-80.
- Salemi VM, Pires MD, Cestari IN, Cestari IA, Picard MH, Leirner AA, Mady C. (2004) Echocardiographic assessment of global ventricular function using the myocardial performance index in rats with hypertrophy. *Artificial Organs* 28(4): 332-7.
- Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I. (1989) Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *Journal of American Society of Echocardiography* 2(5): 358-67.
- Schoensiegel F, Ivandic B, Geis NA, Schrewe A, Katus HA, Bekereditjian R. (2011) High throughput echocardiography in conscious mice: training and primary screens. *Ultraschall in der Medizin* 32 (1): S124-9.
- Siqués P, Brito J, León-Velarde F, Barrios L, Cruz JJ, López V, Herruzo R. (2006) Time course of cardiovascular and hematological responses in rats exposed to chronic intermittent hypobaric hypoxia (4600 m). *High altitude medicine & biology* 7(1): 72-80.
- Slama M, Susic D, Varagic J, Ahn J, Frohlich ED. (2002) Echocardiographic measurement of cardiac output in rats. *American journal of physiology: Heart and Circulatory Physiology* 284(2): H691-7.
- Slama M, Ahn J, Varagic J, Susic D, Frohlich ED. (2004) Long-term left ventricular echocardiographic follow-up of SHR and WKY rats: effects of hypertension and age. *American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology* 286(1): H181-5.

- Smith TL, Hutchins PM. (1980) Anesthetic effects on hemodynamics of spontaneously hypertensive and Wistar-Kyoto rats. *American Journal of Physiology* 238(4): H539-44.
- Stein AB, Tiwari S, Thomas P, Hunt G, Levent C, Stoddard MF, Tang XL, Bolli R, Dawn B. (2007) Effects of anesthesia on echocardiographic assessment of left ventricular structure and function in rats. *Basic Research in Cardiology* 102(1): 28-41.
- Tanaka N, Dalton N, Mao L, Rockman HA, Peterson KL, Gottshall KR, Hunter JJ, Chien KR, Ross J Jr. (1996) Transthoracic echocardiography in models of cardiac disease in the mouse. *Circulation* 94(5): 1109-17.
- Tei C. (1995) New non-invasive index for combined systolic and diastolic ventricular function. *Journal of cardiology* 26(2): 135-6.
- Teichholz LE, Kreulen T, Herman MV, Gorlin R. (1976) Problems in echocardiographic volume determinations: echocardiographic-angiographic correlations in the presence of absence of asynergy. *The American journal of cardiology* 37(1): 7-11.
- Watanabe K, Yaoita H, Ogawa K, Oikawa M, Maehara K, Maruyama Y. (2006) Attenuated cardioprotection by ischemic preconditioning in coronary stenosed heart and its restoration by carvedilol. *Cardiovascular research* 71: 537–547.
- Weytjens C, Cosyns B, D'hooge J, Gallez C, Droogmans S, Lahoute T, Franken P, Van Camp G. (2006) Doppler myocardial imaging in adult male rats: reference values and reproducibility of velocity and deformation parameters. *European journal of echocardiography* 7(6): 411-7.
- Wichi R, Malfitano C, Rosa K, De Souza SB, Salemi V, Mostarda C, De Angelis K, Irigoyen MC. (2007) Noninvasive and invasive evaluation of cardiac dysfunction in experimental diabetes in rodents. *Cardiovascular Diabetology* 26: 6-14.
- Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. (2001) Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca<sup>2+</sup> sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovascular Research* 54(1): 162-74.
- Xu WQ, Yu Z, Xie Y, Huang GQ, Shu XH, Zhu Y, Zhou ZN, Yang HT. (2011) Therapeutic effect of intermittent hypobaric hypoxia on myocardial infarction in rats. *Basic research in cardiology* 106(3): 329-42.

- Yellon DM, Downey JM. (2003) Preconditioning the myocardium: From cellular physiology to clinical cardiology. *Physiological Reviews* 83: 1113–1151.
- Yuan F, Guo Z, Xu Y, Wang X, Bu HM, Zhong N, Zhang Y, Zhou ZN. (2008) Comparison of the effects of chronic intermittent hypobaric hypoxia and continuous hypobaric hypoxia on hemodynamics in rats. *Sheng Li Xue Bao* 25; 60(6).
- Zhang Y, Takagawa J, Sievers RE, Khan MF, Viswanathan MN, Springer ML, Foster E, Yeghiazarians Y. (2007) Validation of the wall motion score and myocardial performance indexes as novel techniques to assess cardiac function in mice after myocardial infarction. *American journal of Physiology: Heart and circulatory physiology* 292(2): H1187-92.

#### Monografie

- Linhart A, Paleček T, Aschermann M. (2002) Echokardiografie pro praxi. Audioscan, spol. s r. o.